

**UNIVERSIDAD DE CUENCA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**  
**CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**



**“CALIDAD FISICOQUÍMICA DE LA LECHE CRUDA QUE INGRESA A LA  
CIUDAD DE CUENCA, PARA SU COMERCIALIZACIÓN”**

Tesis previa  
a la obtención del título  
de Bioquímico Farmacéutico

**AUTORES:**

**Andrea Fernanda Abril Torres**  
**Viviana Elizabeth Pillco Orozco**

**DIRECTOR:**

**Dr. Eduardo José Sánchez Sánchez**

**Asesores:**

**Ing. Quim. José David Serrano Campoverde**  
**Dra. Sandra Elizabeth Guaraca Maldonado**

**CUENCA – ECUADOR**

**2013**

## RESUMEN

El consumo de leche de vaca en la ciudad de Cuenca es muy alto, lo que convierte este alimento en uno de los más consumidos. Por tal razón se debe realizar investigaciones acerca de sus propiedades fisicoquímicas.

El propósito de este trabajo fue evaluar la calidad fisicoquímica de la leche cruda. Para ello se tomaron 93 muestras de leche cruda en las entradas de la ciudad, siendo estas: Tarqui, Barabón y Sayausí.

Al ser Tarqui la zona con mayor producción ganadera se recolectaron 69 muestras en dos semanas, mientras que en las zonas de Sayausí y Barabón se recolectaron 12 muestras de cada una. Todo este muestreo y análisis se realizó durante los meses de Junio y Julio del 2013.

Para el muestreo se contó con el apoyo de “AGROCALIDAD”, el análisis de las muestras recolectadas se realizó en el Laboratorio de Alimentos “MSV” propiedad de la Dra. Sandra Guaraca y en el Laboratorio de Bromatología de la Universidad de Cuenca.

Los parámetros fisicoquímicos que fueron analizados para determinar la calidad de la leche son los establecidos por la NTE INEN 9: 2012: Densidad Relativa, Materia Grasa, Acidez Titulable, Sólidos Totales, Sólidos No Grasos, Proteínas, Reacción de la Estabilidad Proteica, Presencia de Neutralizantes, Presencia de Antibióticos.

Los resultados obtenidos indicaron que de las 93 muestras analizadas el 49,47% están dentro de los parámetros de calidad, mientras que el 50,53% restante presenta alteración en uno, algunos o todos los parámetros analizados, por lo cual no es apta para el consumo humano.

**Palabras claves:** leche, parámetros fisicoquímicos, calidad de la leche.

## **ABSTRACT**

The consumption of cow's milk in the city of Cuenca is very high, making this food in one of the most used in our society. For this reason you should do research on their physicochemical properties as improper handling brings a loss quality of the same.

The purpose of this study was to determine the physical and chemical quality of raw milk entering the city to its commercialization. This 93 raw milk samples were taken at the entrances to the city with the highest influx of traders from the same which are: Tarqui, Sayausí and Barabón.

Being Tarqui entry with increased livestock production 69 samples were collected in two weeks , while entries Sayausí and Barabón to be areas with lower livestock production 12 samples were collected from each zone . All this sampling and analysis was conducted during the June and July 2013.

For sampling was counted with the support of the Ecuadorian Agency for Quality Assurance Agro " AGROCALIDAD " analysis of the collected samples was performed at the Laboratory of Food " MSV " owned by Dr. Sandra Guaraca and Laboratory Food Science, University of Cuenca.

The physicochemical parameters were analyzed to determine the quality of raw milk are established by the NTE INEN 9: 2012: Relative Density , Fat Content , Titratable Acidity , Total Solids , Solids Not Fatty , Proteins , Reaction Protein Stability , Presence Neutralizing , Presence of Antibiotics .

Keys words: milk, physicochemical parameters, quality of milk.

**CONTENIDO**

INTRODUCCIÓN .....	13
CAPITULO I: CONTENIDO TEÓRICO.....	16
1. LECHE .....	16
1.1. GENERALIDADES .....	16
1.2 HISTORIA .....	16
1.3 DEFINICIÓN.....	17
1.4 COMPOSICIÓN DE LA LECHE .....	18
1.4.1 Agua .....	18
1.4.2 Proteínas .....	18
1.4.3 Lípidos .....	19
1.4.4 Hidratos de Carbono.....	19
1.5 PROPIEDADES .....	20
1.5.1 Propiedades Físicas .....	20
1.5.2 Propiedades Fisicoquímicas .....	21
1.5.3 Propiedades Químicas.....	22
1.6 VALOR NUTRICIONAL.....	22
1.7 VALOR ENERGÉTICO.....	23
1.8 RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS .....	23
1.8.1 Contaminación de la Leche por Antibióticos: .....	23
1.8.2 Importancia en la Salud Pública .....	25
1.9. ADULTERANTES EN LECHE .....	26
CAPITULO II: MÉTODOS Y TÉCNICAS DE ANÁLISIS .....	28
2.1 TIPO DE ESTUDIO .....	28
2.2 POBLACIÓN DE ESTUDIO Y MUESTRA.....	28
2.3 TAMAÑO DE MUESTRA.....	28

2.4 MUESTREO .....	29
2.5 TOMA DE MUESTRA, RECOLECCIÓN Y TRANSPORTE.....	30
2.6 FLUJOGRAMA DE TRABAJO .....	30
2.7 DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD: MÉTODO DEL LACTODENSÍMETRO .....	31
2.8 DETERMINACIÓN DE LA GRASA: MÉTODO DE GERBER.....	31
2.9 DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ TITULABLE .....	32
2.10 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES: MÉTODO PARA CALCULAR EL CONTENIDO DE SÓLIDOS TOTALES EN LA LECHE A PARTIR DE SU DENSIDAD Y DE SU CONTENIDO DE GRASA.....	33
2.11 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS NO GRASOS.....	33
2.12 DETERMINACIÓN DE ESTABILIDAD PROTEICA.....	33
2.12.1 Prueba del alcohol .....	34
2.13 DETERMINACIÓN DE NEUTRALIZANTES: MÉTODO DE LA ALIZARINA	34
2.14 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS: MÉTODO DE SORENSEN .....	35
2.15 DETERMINACIÓN DE ANTIBIÓTICOS: MÉTODO TRISENSOR.....	36
CAPITULO III: RESULTADO Y DISCUSIÓN .....	38
3.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	38
3.2 COMPORTAMIENTO DE LOS PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS EVALUADOS EN LA LECHE CRUDA .....	39
3.3 ANÁLISIS DE LA CALIDAD DE LA LECHE CRUDA SEGÚN LAS LOCALIDADES DE ESTUDIO .....	43
CAPITULO IV: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	49
4.1 CONCLUSIONES.....	49
4.2 RECOMENDACIONES .....	50
BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS.....	52
ANEXOS .....	58

Yo, Andrea Fernanda Abril Torres, autor de la tesis **“CALIDAD FISICOQUÍMICA DE LA LECHE CRUDA QUE INGRESA A LA CIUDAD DE CUENCA, PARA SU COMERCIALIZACIÓN”**, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímico Farmacéutico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 09 de diciembre de 2013



---

Andrea Fernanda Abril Torres  
0105144810

---

*Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999*

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316  
e-mail [cdjbv@ucuenca.edu.ec](mailto:cdjbv@ucuenca.edu.ec) casilla No. 1103  
Cuenca - Ecuador

Yo, Andrea Fernanda Abril Torres, autor de la tesis **“CALIDAD FISICOQUÍMICA DE LA LECHE CRUDA QUE INGRESA A LA CIUDAD DE CUENCA, PARA SU COMERCIALIZACIÓN”** certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, 09 de diciembre de 2013



---

Andrea Fernanda Abril Torres  
0105144810

---

*Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999*

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail [cdjbv@ucuenca.edu.ec](mailto:cdjbv@ucuenca.edu.ec) casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



Yo, Viviana Elizabeth Pillco Orozco, autor de la tesis **“CALIDAD FISICOQUÍMICA DE LA LECHE CRUDA QUE INGRESA A LA CIUDAD DE CUENCA, PARA SU COMERCIALIZACIÓN”**, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímico Farmacéutico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 09 de diciembre de 2013

  
Viviana Elizabeth Pillco Orozco  
0105616395

*Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999*

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail [cdjbv@ucuenca.edu.ec](mailto:cdjbv@ucuenca.edu.ec) casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



Yo, Viviana Elizabeth Pillco Orozco, autor de la tesis **“CALIDAD FISICOQUÍMICA DE LA LECHE CRUDA QUE INGRESA A LA CIUDAD DE CUENCA, PARA SU COMERCIALIZACIÓN”** certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, 09 de diciembre de 2013



Viviana Elizabeth Pillco Orozco  
0105616395

*Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999*

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail [cdjbv@ucuenca.edu.ec](mailto:cdjbv@ucuenca.edu.ec) casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador

## **DEDICATORIAS**

A Dios, por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida. Por los triunfos y los momentos difíciles que me han enseñado a valorarlo cada día más,

A mi madre por ser la persona que me ha acompañado durante todo mi trayecto estudiantil y de vida,

A mi padre quien con sus consejos ha sabido guiarme para culminar mi carrera profesional.

A mis hermanas, que con sus consejos me han ayudado a afrontar los retos que se me han presentado a lo largo de mi vida.

A mis profesores, gracias por su tiempo, por su apoyo así como por la sabiduría que me transmitieron en el desarrollo de mi formación profesional.

A mi compañera, Andrea porque sin el equipo que formamos, no habiéramos logrado esta meta.

**Viviana Elizabeth Pillco Orozco**

**A Dios:**

Dedico este trabajo a Dios por que sin el nada serias posible, tu eres la fuerza divina que no me deja caer, me fortalece y me impulsa cada día a seguir adelante y a cumplir mis sueños.

**A Mis Padres:**

Dedico este trabajo a mis padres, porque a ellos les debo todo lo que soy, esta meta no hubiera podido ser posible sin su apoyo.

Esta es la mejor manera que encuentro para agradecerles por todo el apoyo incondicional y le doy gracias a Dios por la bendición que me dio con unos padres como ustedes.

**ANDREA**

## **AGRADECIMIENTOS**

Primeramente a Dios que es la fuerza divina que nos impulsa cada día a seguir adelante y a cumplir nuestras metas, siendo una de ellas el prepararnos profesionalmente para servir a la comunidad.

Extendemos nuestros más sinceros agradecimientos:

A todos nuestros maestros de la Universidad de Cuenca que compartieron con nosotros sus valiosos conocimientos y experiencia para hacer de nosotros profesionales éticos y exitosos.

A nuestro director de tesis, Dr. Eduardo Sánchez por ser una excelente guía, por su paciencia y su atenta colaboración en cualquier duda de nuestro trabajo investigativo.

A la Dra. Sandra Guaraca y al Ing. José Serrano por su ayuda valiosa y por compartir con nosotros sus conocimientos.

Para la institución “AGROCALIDAD” con su director el Ing. Alfonso Palacios por haber atendido nuestra solicitud de la manera más atenta.

A la Ing. Wania Espinoza, funcionaria de AGROCALIDAD por su excelente colaboración en la toma de muestras y su amistad desinteresada, de igual manera para el Dr. Pablo Velesaca y demás funcionarios con los cuales tuvimos la oportunidad de interactuar.

## **INTRODUCCIÓN**

La provincia del Azuay por ser una zona ideal para la ganadería tiene una gran producción de leche, la cual ingresa para ser comercializada en la Ciudad de Cuenca.

Con este trabajo se pretende evaluar la calidad fisicoquímica de la leche cruda que ingresa a la ciudad de Cuenca, y con ello concientizar a los productores y comerciantes sobre la importancia de una leche de calidad y frente a la posibilidad de adulteraciones que dañen la calidad de la misma y de este modo afectar la salud de los principales consumidores que en este caso son niños y adultos mayores.

La leche es un alimento valioso, casi completo, su única deficiencia está en la vitamina C y el hierro. Cuenta con proteína, aminoácidos esenciales, hidratos de carbono (glúcidos), grasas, es rica en calcio y fósforo, por lo cual es muy beneficioso y aporta un alto valor nutritivo.

Otro punto de interés con este trabajo es determinar la presencia de residuos de antibióticos como un serio problema de salud pública, ya que los mismos son muy usados en la industria ganadera de manera incorrecta e indiscriminada para curar diversas enfermedades.

La administración más frecuente es por vía intramamaria con lo cual se obtiene un producto lácteo con residuos de antibióticos causando a los consumidores alergias, intoxicaciones y resistencia a estos diversos medicamentos.

Los parámetros analizados en este estudio fueron: densidad, materia grasa, sólidos totales, sólidos no grasos, acidez, proteínas, reacción de estabilidad proteica, presencia de antibióticos y neutralizantes.

Las características de la leche cruda hacen que sea, además de un alimento muy completo desde el punto de vista nutricional, un producto alterable que puede

estar sujeto a fraude y un sustrato idóneo para el desarrollo de ciertos microorganismos que pueden afectar su calidad. Por ende se debe garantizar la calidad mediante la determinación de los diferentes parámetros que exige la norma NTE INEN 9:2012 para leche cruda.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General:**

Evaluar la calidad de la leche cruda que ingresa a la ciudad de Cuenca a ser comercializada, amparada en la norma NTE INEN 9: 2012

### **Objetivos Específicos:**

- Determinar la presencia de residuos de medicamentos veterinarios como antibióticos en sus tres grupos: sulfamidas, Betalactámicos y tetraciclinas que pudieren estar presentes en la leche.
- Determinar la presencia de sustancias alcalinizantes en la leche.
- Determinar parámetros como la densidad, Materia grasa, sólidos totales y no graso, Acidez, Proteínas y reacción de estabilidad, para verificar la calidad de la leche.

## **HIPÓTESIS:**

La leche cruda que ingresa a ser comercializada en la ciudad de Cuenca cumple los parámetros fisicoquímicos establecidos por la NTE INEN 9:2012.

# **CAPÍTULO I**

# **CONTENIDO TEÓRICO**



## CAPITULO I: CONTENIDO TEÓRICO

### 1. LECHE

#### 1.1. GENERALIDADES

La leche es una secreción mamaria que se utiliza como fuente de nutrimentos. Por esto, un factor fundamental que influye sobre el valor de aceptación universal de la leche es la imagen que ésta representa, a saber, que constituye una fuente nutritiva, no superada por ningún otro alimento conocido por el ser humano.

La confirmación de esta imagen nutritiva está en el uso extensivo que tienen la leche y sus derivados, como parte de la dieta diaria de los pueblos de los países altamente desarrollados. A consecuencia de esto, estas sociedades gozan casi de una completa carencia de enfermedades nutricionales, entre bebés, niños y adultos jóvenes. (1)

En contraste, una elevada proporción de los habitantes de las zonas en desarrollo especialmente bebés y niños, que tienen un suministro primitivo o inexistente de leche, sufren deficiencias nutricionales.

Si bien son incuestionables las cualidades nutritivas de la leche y los productos lácteos, no es menos cierto que, desde su síntesis en la glándula mamaria hasta su llegada al consumidor, estas cualidades están sometidas a un gran número de riesgos que hacen peligrar la calidad original. (1)

#### 1.2 HISTORIA

Desde hace 8,000 años, los pueblos de Mesopotamia intentaron domesticar animales productores de leche, por lo que es lógico pensar que desde entonces el hombre buscara utilizar y procesar la leche con fines alimentarios.

Probablemente el primer animal que fue criado para la obtención de leche fue la cabra, aunque otros autores mencionan a la oveja como el primer mamífero domesticado para este fin. Con la domesticación del ganado vacuno, sin

embargo, las cabras fueron sustituidas por las vacas como fuente principal de leche.

La introducción del ganado lechero en la Nueva España fue en un principio reducido dado las dificultades para su transporte; sin embargo la producción animal creció y se dispersó rápidamente observándose un auge a mediados del siglo XVI.

Hasta inicios del siglo XIX, la gente en México bebía la leche producida en granjas y rancherías cercanas. Con el desarrollo del ferrocarril, la leche estuvo a disposición de mucha más gente. Sin embargo, la calidad de la leche era a veces muy pobre y podía estar contaminada con bacterias que causaban enfermedades. (2)

Hacia finales del siglo XIX con el surgimiento de la pasteurización y la estandarización se logró obtener una leche de mucha mayor calidad y con mucho menor riesgo para la salud. Actualmente, gracias al advenimiento de la biotecnología y los avances tecnológicos industriales se han logrado desarrollar productos lácteos cada vez más sofisticados y funcionales que contribuyen no sólo a agradar al paladar, sino a procurar la salud del consumidor. (2)

### **1.3 DEFINICIÓN**

La leche es un líquido que segregan las glándulas mamarias de las hembras de los mamíferos (incluidos los monotremas). (1)

#### **Según la NTE INEN 9:2012**

**Leche.**-Producto de la secreción mamaria normal de animales bovinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños diarios, higiénicos, completos e ininterrumpidos, sin ningún tipo de adición o extracción, destinada a un tratamiento posterior previo a su consumo.

**Leche cruda.**- Leche que no ha sido sometida a ningún tipo de calentamiento, es decir su temperatura no ha superado la de la leche inmediatamente después de ser extraída de la ubre (no más de 40°C). (4)

## 1.4 COMPOSICIÓN DE LA LECHE

La composición de la leche de vaca ocupa un lugar preponderante desde el punto de vista comercial y de consumo humano, ya que de esto depende la calidad de los productos y sus precios. La leche es un producto muy susceptible a las adulteraciones, por lo que su composición se determina en normas específicas de calidad e higiene, para de esta manera proteger al consumidor. (2)

La leche es un producto de gran complejidad química y física constituida principalmente por agua y elementos nutritivos tales como grasa, glúcidos, proteínas, gran cantidad de minerales y una variedad de vitaminas. (3)

**Tabla 1:** Composición de la leche de vaca (por cada 100 gramos).

COMPONENTE	PORCENTAJE (%)
Agua	85 -87
Proteínas	3-4
Lípidos	3-6
Hidratos de Carbono	4
Minerales	0,72

### 1.4.1 Agua

Cuantitativamente, el agua es el elemento más importante. Aproximadamente el 87,5% de la leche es agua. El agua constituye la fase líquida de la leche y en ella se encuentran los otros componentes sólidos y gaseosos en diferentes formas de solución. (2)

Su función es actuar como disolvente de los demás componentes, el contenido total de agua influye en la textura. (5)

### 1.4.2 Proteínas

La leche de la vaca contiene un 3-4% de proteínas. Las más abundantes son las caseínas 75%, las globulinas 11 % y las albuminas 5%. (5)

- **Caseínas:**

Son proteínas hidrofóbicas que están formando micelas, estas proteínas contienen grupo fosfato que esterifican residuos alcohol de aminoácidos, como la Serina y la Treonina. (5)

Las características comunes que poseen las caseínas son: cantidades abundantes de ácido aspártico y ácido glutámico, coagulan a pH de 4,6, precipitan con ion calcio excepto la caseína K, son estables a 100°C y tienen un contenido bajo de aminoácidos azufrados. (5)

- **Proteínas del Suero:**

Estas proteínas forman una solución coloidal con el agua. Estas proteínas del suero presentan características totalmente diferenciales de las caseínas: no coagulan a pH ácido, no son sensibles al ion calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), son resistentes al cuajo, tiene una estructura secundaria y terciaria definida, ya que al tener aminoácidos azufrados poseen enlaces disulfuro y se desnaturalizan al calentar. Están constituidas por tres grandes fracciones: albúminas, globulinas y fracción proteasa-peptona. (5)

### 1.4.3 Lípidos

La fracción lipídica de la leche (3-6%) está constituida por lípidos apolares (>98%) y polares (<2%).

- **Lípidos Apolares:**

Son en su mayoría triglicéridos (97-98%), con pequeñas cantidades de monoglicéridos, diglicéridos y ácidos libres. Los ácidos grasos que forman parte de estos triglicéridos son variados.

- **Lípidos Polares:**

Incluyen diferentes tipos de constituyentes como los fosfolípidos (la lecitina o la fosfatidilcolina), los cerebrosidos, los gangliósidos y la fracción insaponificable donde se encuentra el colesterol, los pigmentos naturales (carotinoides) y la vitaminas liposolubles (A, D, E). (5)

### 1.4.4 Hidratos de Carbono

El contenido de hidratos de carbono en la leche está alrededor del 4%. El glúcido mayoritario es la lactosa del disacárido formado por glucosa y galactosa.

La lactosa es hidrolizada en el organismo consumidor, por el enzima lactasa, formándose los dos monosacáridos que la componen, que luego son absorbidos.

La falta de lactasa en ciertas personas produce la intolerancia a la lactosa. La lactosa puede fermentar por acción microbiana produciendo ácido láctico, lo cual hace aumentar la acidez de la leche.

También hay que indicar que la lactosa es el sustrato más susceptible de intervenir en la denominada reacción de Maillard, que produce pardeamiento de la leche y otros alimentos. (5)

## **1.5 PROPIEDADES**

Todas las propiedades de la leche están determinadas por sus constituyentes, por lo que cualquier proceso y operación que altere a estos se refleja en ella. (6)

- **Características Generales:**

La leche fresca de vaca deberá presentar aspecto normal, estará limpia y libre de calostro, preservadores, antibióticos, colorantes, materias extrañas y sabores u olores objetables o extraños.

La leche se obtendrá de vacas acreditadas como sanas, es decir libres de toda enfermedad infectocontagiosa tales como tuberculosis, brucelosis y mastitis.

A partir del momento de obtención de la leche se someterá a filtración y enfriamiento inmediato a 4° C, en el momento de a entrega podrá estar a una temperatura no mayor de 10°C. (6)

### **1.5.1 Propiedades Físicas**

La leche tiene una estructura física compleja con tres estados de agregación de la materia:

- Emulsión, en la que se encuentran, principalmente, las grasas.
- Disolución coloidal de parte de las proteínas.
- Disolución verdadera del resto de las proteínas, la lactosa y parte de los minerales.

Por tanto, podemos definir la leche como una suspensión coloidal de partículas en un medio acuoso dispersante.

- **Sabor:** La leche fresca normal tiene un sabor ligeramente dulce debido principalmente a su alto contenido de lactosa; todos los elementos participan en la sensación del sabor que percibe el consumidor. (6)
- **Olor:** La leche recién ordeñada tiene un olor característico, que desaparece rápidamente con la manipulación y adquiere el olor de los recipientes que la contiene. (6)
- **Color:** La leche es un líquido blanquecino amarillento y opaco, color característico que se debe principalmente a la dispersión de la luz por las micelas de fosfocaseinato de calcio. Los glóbulos grasos también contribuyen con el color blanquecino. El caroteno y la Riboflavina contribuyen al color amarillento. (6)
- **Viscosidad:** La viscosidad de la leche está dada por el grado de resistencia a fluir, ósea que es el coeficiente de frotamiento entre las moléculas. La viscosidad aumenta con la disminución de la temperatura, el incremento del contenido graso, la homogenización, fermentación, envejecimiento y altas temperaturas seguidas de enfriamiento. (6)

### 1.5.2 Propiedades Fisicoquímicas

**Tabla 2:** Requisitos Fisicoquímicos de la Leche Cruda. (4)

Densidad Relativa (20°C)	1,028 - 1,032
Materia Grasa (%fracción de masa)	Min 3,0
Acidez Titulable como Ácido Láctico (%fracción de masa)	0,13 - 0,17
Sólidos Totales (%fracción de masa)	Min 11,2
Sólidos No Grasos (%fracción de masa)	Min 8,2
Cenizas (%fracción de masa)	Min 0,65
Punto de Congelación (°C)	-0,536 -0,512
Proteínas (%fracción de masa)	Min 2,9
Ensayo de la Reductasa (horas)	Min 3
Reacción de Estabilidad Proteica	Negativo
Presencia de Conservantes	Negativo

Presencia de Neutralizantes	Negativo
Presencia de Adulterantes	Negativo
Grasas Vegetales	Negativo
Suero de Leche	Negativo
Prueba de Brucelosis	Negativo
Residuos de Medicamentos Veterinarios	Negativo

### **1.5.3 Propiedades Químicas**

La leche es un líquido de composición compleja, el agua es el soporte de los componentes sólidos de la leche y se encuentra presente en dos estados: como agua libre que es la mayor parte (intersticial) y como agua adsorbida en la superficie de los componentes.

En lo que se refiere a los sólidos o materia seca la composición porcentual más comúnmente hallada es la siguiente:

- Materia grasa (lípidos): 3.5% a 4.0%
- Lactosa: 4.7% (aprox.)
- Sustancias nitrogenadas: 3.5% (proteínas entre ellos)
- Minerales: 0.8%

A pesar de estos porcentajes en la composición de la leche se acepta como los más comunes, no es fácil precisar con certeza los mismos, pues dependen de una serie de factores. (7)

### **1.6 VALOR NUTRICIONAL**

De todos los alimentos que consume el hombre, sólo la leche tiene como único objetivo el de servir de alimento como tal. Consecuentemente, se espera que su valor nutritivo sea muy alto. (8)

La leche constituye uno de los alimentos naturales más completos, y su valor nutritivo es tal que no puede ser fácilmente desplazada ni sustituida por otros alimentos.



Es por esto que el consumo de leche está especialmente indicado durante la etapa de crecimiento y, aunque en la madurez no resulta indispensable, es conveniente su incorporación en toda dieta sana y equilibrada. (8)

Su riqueza en energía, proteínas de fácil asimilación, grasa, calcio, fósforo y varias vitaminas hacen de la leche el alimento básico del lactante y, en general, del niño en sus primeros cuatro años de vida, aunque también es muy importante en otras etapas de la vida. La leche contiene elementos nutritivos, da protección inmunológica y suministra sustancias biológicas activas tanto a neonatos como a adultos. (8)

### **1.7 VALOR ENERGÉTICO**

La leche entera de vaca es también una fuente de energía cuyo valor energético varía entre 610 y 710 Kcal por litro, pudiéndose tomar como promedio el de 650 Kcal. El de la leche descremada es de 360 Kcal por litro. (8)

### **1.8 RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS**

#### **1.8.1 Contaminación de la Leche por Antibióticos:**

En los mamíferos la leche constituye una vía natural de eliminación para estas sustancias y sus metabolitos durante un periodo variable de tiempo que depende tanto del animal tratado (especie, raza, edad, estado fisiológico) como también del medicamento utilizado. (14)

La cantidad de antibióticos que llega a la leche depende del tipo de preparado (componente activo y vehículo), dosis y forma de aplicación, producción de leche del animal tratado, tipo y grado de afección mamaria y tiempo que media entre el tratamiento y el ordeño. (1)

**Tabla 3:** Tiempo medio de permanencia en diferentes partes de aplicación de diferentes antibióticos (14)

ADMINISTRACIÓN	PERMANENCIA
Oral	86 horas
Intramuscular	72 – 96 horas
Intravenosa	44 horas
Intramamaria	48 – 144 horas
Intrauterina	31 horas

La administración ya sea oral, intramuscular o intravenosa, tiene menos importancia, desde el punto de vista de higiene de leche, que la aplicación por vía intramamaria. Esta última es la más usada para el tratamiento de la mastitis, dependiendo la cantidad de antibióticos eliminada por la leche del tipo de preparado, dosis, intervalos entre tratamiento y ordeño, número de ordeños, producción de leche y factores individuales. Los preparados con base hidrófoba, presentan un tiempo de eliminación más prolongado que aquellos con base acuosa.

Debido a que los antibióticos de aplicación intramamaria son de fácil aplicación y generalmente baratos, dado que usualmente no se consulta al médico veterinario para su aplicación, se han hecho muy populares en las explotaciones lecheras y la consecuencia inmediata de esto es su reconocimiento como la principal causa de aparición de residuos de antibióticos en la leche. (1)

**Tabla 4:** Termoestabilidad de algunos antibióticos. (14)

ANTIBIÓTICO	% DE DESTRUCCIÓN SEGÚN EL TRATAMIENTO TÉRMICO		
	PASTEURIZACIÓN	90°	100°
	N	C/30min	C/30min
Penicilina	8 %	20 %	50 %
Estreptomicina	-	-	66 %
Neomicina	-	-	66 %
Clortetraciclina	-	-	90 %
Oxitetraciclina	-	-	90 %
Cloranfenicol	-	-	-

### **1.8.2 Importancia en la Salud Pública**

No se conocen informes sobre intoxicaciones provocadas por antibióticos de uso común ingeridos a través de la leche y se explica porque sus concentraciones resultan ser muy bajas como para provocar un efecto tóxico, con la excepción, Posiblemente, del cloranfenicol, que es capaz de producir, de acuerdo a algunos investigadores, anemia áplasia por depresión de la médula ósea, al suministrarse dosis bajas por períodos cortos de tiempo. No obstante lo anterior, subsiste la duda de si el consumo de antibióticos por el hombre, a través de alimentos contaminados, puede alcanzar niveles que determinen una toxicidad de tipo crónico, motivo más que suficiente para prohibir la presencia de éstos en los alimentos. (1)

Otro de los problemas que ocasiona en el ser humano el antibiótico presente en la leche, lo constituyen las reacciones de tipo alérgico que se producen luego de un período de sensibilización, en el cual se generan en el sistema retículo endotelial anticuerpos contra la droga administrada que actúa como antígeno. El contacto con los antígenos, continuado o periódico, provoca la reacción alérgica que resulta desproporcionada con la dosis ingerida. (1)

En la alergia humana producida por antibióticos contenidos en la leche se dan efectos bien establecidos, sobre todo para los antibióticos de tipo  $\beta$ -lactámico. Estos efectos son reacciones alérgicas comprendido entre un espectro que va desde salpullidos superficiales apacibles hasta angiodema e inclusive anafilaxis. Las consecuencias sobre la salud son más graves en aquellos sectores de la población más débiles, como son las poblaciones anciana e infantil ambas tradicionalmente consumidoras de productos lácteos. (14)

La OMS establece que para el caso de administración oral de 40 UI de penicilina, esta dosis puede provocar graves reacciones, lo que permite suponer que no deberían permitirse la presencia de cantidades trazas en la leche. (1)

Además del problema de las reacciones alérgicas, los antibióticos presentes en la leche pueden provocar los siguientes efectos en el consumidor:

- Alteración de la flora intestinal
- Estimulación de bacterias antibiótico-resistentes
- Desarrollo de microorganismos patógenos, y
- Reducción de la síntesis de vitaminas. (1)

### **1.9. ADULTERANTES EN LECHE**

Los principales adulterantes conocidos que son incorporados a la leche y que constituyen fraudes para el consumidor se dividen en dos grupos: los que se adicionan directamente como agua, sales neutralizantes diversas, sacarosa, glucosa y urea; y los que sustituyen a los constituyentes propios de la leche (proteínas y grasa) como suero de quesería y grasas de origen vegetal y animal. (13)

La leche se considera genuina, y no adulterada, cuando, desde la producción hasta el consumo no se altera de forma voluntaria sus constituyentes naturales, ni se hacen manipulaciones destinadas a ocultar algún defecto de calidad. (13)

El producto se considera genuino cuando ninguno de sus constituyentes naturales ha sido alteado deliberadamente o sometido a ninguna manipulación que enmascare defectos en su calidad en ningún momento durante la producción o comercialización del mismo. En este sentido, la leche debe estar libre de agua adicionada, materiales foráneos y el contenido de sus componentes tanto mayoritarios, como trazas debe estar dentro de los límites normales de su composición. (13)

**Adición de Agua.-** Este es el tipo de adulteración más común por su mayor facilidad, que ocurre en la leche en el mundo y tiene como objetivo obvio incrementar las ganancias a partir del incremento en el volumen de ventas. La legislación y las regulaciones prohíbe expresamente la adición de agua a la leche, y por lo tanto, los procedimientos analíticos para detectar esta adición de agua tiene especial interés.(13)

# **CAPÍTULO II**

## **MÉTODOS Y TÉCNICAS DE ANÁLISIS**

## CAPITULO II: MÉTODOS Y TÉCNICAS DE ANÁLISIS

### 2.1 TIPO DE ESTUDIO

Este tema se trata de una investigación de campo, descriptivo, de corte transversal.

### 2.2 POBLACIÓN DE ESTUDIO Y MUESTRA

La población de estudio fue la leche cruda que ingresa a la ciudad de Cuenca a ser comercializada, por diferentes proveedores, las zonas estratégicas para el muestreo fueron las vías principales de ingreso a la ciudad, desde Tarqui, Sayausí y Barabón.

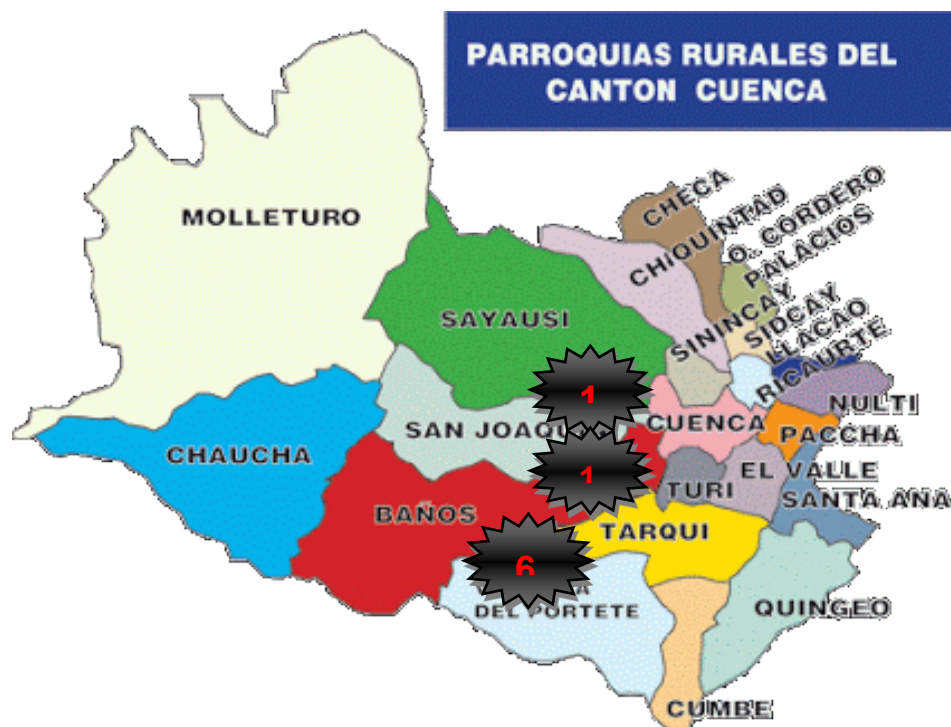
### 2.3 TAMAÑO DE MUESTRA

**Tabla 5:** Numero de muestras tomadas en cada zona

ZONA	UBICACIÓN	FECHA DE MUESTREO	# DE MUESTRAS POR ZONA
Tarqui	Vía vieja Cuenca-Girón-Pasaje, sector estación de Cumbe.	12/Junio/ 2013	29
	Panamericana Sur-Narancay, sector Importadora Cumpleaños	26/Junio/ 2013	40
Barabón	Vía principal a Barabón y puente que cruza a Baños.	04/Julio/ 2013	12
Sayausí	intersección Av. Ordoñez Lazo y autopista Cuenca-Molleturo-Naranjal	17/Julio/ 2013	12
El total de número de muestras analizadas son 93			

En la zona de Tarqui se realizó la toma de muestra en días diferentes debido a la gran producción de leche, tomando en cuenta que no se podía analizar dicha cantidad de muestras en un solo día. En el segundo día de muestreo en Tarqui se tomó en cuenta que no sean proveedores ya muestreados mediante la utilización de un registro.

(Anexo 11)



**Grafico 1:** Mapa de la Ciudad de Cuenca con el número de muestras en cada zona

Tomado de: <http://ecuadorecuatoriano.blogspot.com/2012/07/mapa-de-cuenca.html>

## 2.4 MUESTREO

El muestreo fue basado en la NTE INEN 4(Primera revisión) establecida para el muestreo de leche y productos lácteos, y de acuerdo al número de cantarillas que sean transportadas hacia la ciudad como se presenta en el siguiente cuadro:

**Tabla 6:** Muestreo por unidades voluminosas

TAMAÑO DE LOTE	UNIDADES PARA MUESTREO
1	1
2 – 5	2
6 – 60	3
61 – 80	4
81 – 100	5
Más de 100	*
* 4, más 1 por cada 2500 unidades adicionales o fracción de cantidad	

Tabla obtenida de la NTE INEN 4(Primera revisión) para muestreo de leche cruda  
(Anexo 1)



## 2.5 TOMA DE MUESTRA, RECOLECCIÓN Y TRANSPORTE

La toma de muestras estuvo respaldada por la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de Calidad del Agro (Agrocalidad) y el apoyo de la Policía Nacional del Medio Ambiente antes del ingreso a la ciudad de Cuenca.

Para la toma de la muestra se utilizó un cucharón de acero inoxidable, grande para que se facilite la homogenización y el sacado de la muestra. Los envases usados para la recolección de las muestras fueron de vidrio resistente con capacidad de 250 ml, con un cierre hermético y debidamente etiquetado.

La muestra fue transportada en condiciones apropiadas, tomando precauciones para que no haya exposición directa del producto a la luz y para que la temperatura no sea menor de 0°C ni mayor de 10°C, para lo cual se utilizó un cooler hasta su procesamiento en el respectivo laboratorio. Este proceso está amparado según la reglamentación de la NTE antes mencionada.

(Ver Anexo 1)

## 2.6 FLUJOGRAMA DE TRABAJO



**Nota:** Las determinaciones se realizaron por duplicado, excepto antibióticos (por presupuesto) y grasa (de cada cinco muestras procesadas una se duplico, por cuestiones económicas), estos valores se encuentran en las tablas de resultados.

(Ver Anexo 11)

## **2.7 DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD: MÉTODO DEL LACTODENSÍMETRO**

**Densidad relativa** es la relación entre la densidad de una sustancia y la densidad del agua destilada, considerando ambas a una temperatura determinada.

- **Fundamento:**

El método se basa en el uso de un densímetro graduado adecuadamente.

**(Ver Anexo 3)**

La densidad de la leche no es un valor constante, por estar determinada por dos factores opuestos y variables:

- Concentración de los elementos disueltos y en suspensión (sólidos no grasos); la densidad varía proporcionalmente a esta concentración. Proporción de materia grasa; teniendo esta una densidad inferior a 1, la densidad global de la leche varía de manera inversa al contenido graso

La densidad varía también con la temperatura por esta razón se hace uso de los termo-lactodensímetros y las tablas de corrección de densidad.

La densidad de la leche recién ordeñada es inestable y se eleva un poco con el tiempo. El aumento es del orden de 0,001, pero en este caso debe también tener su parte el desprendimiento de los gases contenidos. (9)

## **2.8 DETERMINACIÓN DE LA GRASA: MÉTODO DE GERBER**

**Contenido de grasa de la leche** es la cantidad, expresada en porcentaje de masa, de sustancias, principalmente grasas, extraídas de la leche mediante procedimientos normalizados.

- **Fundamento:**

Separar, mediante acidificación y centrifugación, la materia grasa contenida en el producto analizado, y determinar el contenido de grasa mediante lectura directa en un butirómetro estandarizado.

**(Ver Anexo 4)**

La grasa de la leche está formada por varios compuestos que hacen de ella una sustancia de naturaleza relativamente compleja y es la responsable de ciertas características especiales que posee la leche.

La grasa de la leche contribuye de forma significativa a su valor nutricional, sirve como medio de transporte de las vitaminas liposolubles (A, D, E y K).

La grasa de la leche se halla altamente emulsificada y ello facilita su digestión; el hecho de contener más ácidos grasos de cadena corta que de cadena larga parece estimular su utilización por los niños y ancianos. (6)

## **2.9 DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ TITULABLE**

**Acidez titulable de la leche** esta expresada convencionalmente como contenido de ácido láctico y determinada mediante procedimientos normalizados.

- **Fundamento:**

Se titula la acidez con una solución estandarizada de hidróxido de sodio, usando fenolftaleína como indicador.

**(Ver Anexo 5)**

**2.9.1 Acidez Aparente o Natural:** La leche fresca no contiene ácido láctico sin embargo da una reacción acida debido a la presencia de caseína, ácido carbónico, fosfatos y citratos. (6)

**2.9.2 Acidez Verdadera:** Es la que está dada por la presencia del ácido láctico y otros ácidos originados durante la fermentación; a esta acidez también se le conoce como acidez desarrollada o real. Durante la fermentación de la lactosa ocurre además otras fermentaciones que dan origen a olores o aromas característicos y por esto a pesar de que el ácido láctico es inodoro se dice que la leche acida posee un olor característico. (6)

## **2.10 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES: MÉTODO PARA CALCULAR EL CONTENIDO DE SÓLIDOS TOTALES EN LA LECHE A PARTIR DE SU DENSIDAD Y DE SU CONTENIDO DE GRASA**

Cuando se conoce el contenido de grasa y la densidad de la leche, el contenido de sólidos totales puede calcularse directamente mediante la siguiente ecuación:

$$S = 250(d_{20}-1) + 1,22G + 0,72$$

**(Ver Anexo 6)**

## **2.11 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS NO GRASOS**

Cuando se determine únicamente el contenido de sólidos lácteos no grasos, deberá restarse del porcentaje de sólidos totales el porcentaje del contenido de grasa.

$$SNG = ST - \% \text{ Grasa}$$

**(Ver Anexo 2 y 6)**

La determinación de sólidos totales (ST) y sólidos no grasos (SNG) es de importancia para:

- Determinar si una muestra cumple con los requisitos legales establecidos.
- Dicho valores combinados con la información lactométrica y otras pruebas complementarias permite establecer si una leche se encuentra adulterada.
- Establecer el rendimiento de la leche para la elaboración de productos lácteos (queso, yogurt, leche en polvo, etc.)
- Tener valores de referencia para la selección genética de los rebaños.

El porcentaje promedio de sólidos totales está representado por la grasa en emulsión, las proteínas en suspensión coloidal, lactosa, vitaminas, sales y otros componentes orgánicos e inorgánicos en solución. (11)

## **2.12 DETERMINACIÓN DE ESTABILIDAD PROTEICA**

**La estabilidad proteica** es la propiedad que tiene la leche de no producir precipitación o coagulación de la proteína en presencia de una solución de alcohol etílico o por acción del calor, debido a la acidificación.

- **Fundamento:**

El método consiste en añadir a la leche una cantidad de alcohol etílico neutro; si ésta ha sufrido acidificación o es anormal por contener calostro o provenir de vacas afectadas con mastitis, se forman coágulos y el ensayo se reporta como positivo.

**(Ver Anexo 7)**

**2.12.1 Prueba del alcohol.-** Tiene la finalidad de detectar la estabilidad térmica de la leche cruda; es decir, si la leche tiene la capacidad de resistir altas temperaturas de procesamiento sin presentar coagulación visible. Si la muestra es inestable, la leche se coagula, lo que indica que no es apta para su procesamiento. Resultados positivos a la prueba de alcohol generalmente se deben a un elevado grado de acidez; algunas muestras que presentan acidez de 1.3 a 1.6 g / L y pH de 6.6 normales dan positivo a la prueba principalmente por altos contenidos de cloruros, calcio y sodio, o por la presencia de calostro en la leche. (10)

## **2.13 DETERMINACIÓN DE NEUTRALIZANTES: MÉTODO DE LA ALIZARINA**

Los neutralizantes alcalinos son sustancias que tienen como finalidad neutralizar el ácido láctico desarrollado por la fermentación de la lactosa a través de microorganismos específicos. Dentro de estas sustancias están: orina bovina, carbonatos, hidróxido de sodio y jabones de mala calidad.

- **Fundamento:**

El método consiste en añadir a la leche una cantidad de solución alcohólica de alizarina; si ésta ha sufrido acidificación se forman grumos gruesos y una coloración amarilla. Si no hay formación de grumos y se produce una coloración lila, indica la presencia de sustancias neutralizantes (leche alcalina).

**(Ver Anexo 7)**

**2.13.1 Adición de Neutralizantes y Conservadores:** Los aditivos usados para enmascarar la elevada acidez de la leche se realiza mediante la adicción de

neutralizantes, mientras las altas cargas microbianas se deprimen mediante la adición de conservadores. (13)

Los neutralizantes y conservadores más comunes son los siguientes:

- Hidróxido de sodio
- Formol
- Peróxido de Hidrogeno
- Ácido bórico y boratos
- Acido benzoico y ácido sórbico
- Ácido salicílico

La detección de agentes neutralizantes en la leche puede ser llevada a cabo mediante una correlación entre los contenidos de ácido láctico/lactato y la acidez titulable o en base a la elevación e a cenizas alcalinas. (13)

La adicción de neutralizantes a la leche disminuye la acidez titulable pero no afecta el contenido de lactato. Por lo tanto el desbalance de esta relación de parámetros puede significar que hay neutralizantes presentes en la leche, y esto puede ser verificado por medio de las determinaciones de sales de sodio, potasio y calcio. (13)

## **2.14 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS: MÉTODO DE SORENSEN**

**Contenido de proteínas en la leche** es la cantidad de nitrógeno total de la leche expresada convencionalmente como contenido de proteínas y determinada mediante procedimientos normalizados.

- **Fundamento:**

Este método se fundamenta en la titulación de Sorensen, en la cual los grupos amino de los aminoácidos constituyentes de las proteínas ( $-NH_2$ ), son bloqueados con formaldehído neutralizado, para luego titular los grupos carboxilo ( $-COOH$ ) con una solución de álcalis valorada.

Las proteínas forman un sistema coloidal de gran estabilidad solo sensible a la disminución notable de pH y a determinadas enzimas que la precipitan y

coagulan. En la leche hay tres grandes grupos proteicos: caseínas, albúmina y globulina, estas últimas forman las llamadas proteínas del suero. Otro grupo de proteínas está constituido de un gran número de enzimas ejemplo fosfatasas, peroxidases, catalasas, reductasa. (12)

## **2.15 DETERMINACIÓN DE ANTIBIÓTICOS: MÉTODO TRISENSOR**

- **Fundamento:**

Trisensor consiste en una prueba comparativamente atrayente que incluye dos receptores y anticuerpos genéricamente monoclonales en una sola operación. La prueba requiere la utilización de dos componentes. El primer componente es un micropocillo que contiene cantidades previamente determinadas de ambos receptores y anticuerpos enlazados con partículas de oro. El segundo componente consiste de una tira indicadora constituida por un conjunto de membranas con las líneas de la captura específicas. Para que la prueba sea válida, la línea roja de control tiene que ser visible al final de la segunda incubación.

Las otras tres son las líneas de “prueba” específicas que se encuentran debajo de la línea de control. La línea para los antibióticos  $\beta$  –lactámicos (penicilinas y cefalosporinas) está localizada debajo de la línea de sulfamidas mientras la línea que mide tetraciclinas se encuentra arriba. Cuando el reactivo del micro pocillo se vuelve a poner en suspensión con una prueba de leche, si estuvieran presentes, ambos receptores se enlazarán con los analitos correspondientes durante los 3 primeros minutos de incubación a 40°C. A continuación, cuando la tira indicadora se sumerge en la leche, el líquido comienza a correr verticalmente en la tira indicadora y pasa a través de las zonas de captura. Cuando la muestra no contiene antibióticos, se produce un revelado de color en las líneas de captura específicas, indicando la ausencia de los analitos buscados en la muestra de leche. Por el contrario, la presencia de antibióticos en la muestra no provocará el surgimiento de la señal de color en las líneas de la captura específicas.

**(Ver Anexo 8)**



# **CAPÍTULO III**

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## **CAPITULO III: RESULTADO Y DISCUSIÓN**

### **3.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los resultados de las mediciones fueron almacenados en una base de datos con el programa Microsoft Excel 2011. Posteriormente los datos fueron procesados en el paquete estadístico SPSS v.17.0 para Windows.

Para evaluar la posibilidad de aplicar el Análisis de Varianza (ANOVA) de una vía y detectar las diferencias entre las medias de valores de grupos independientes, se analizaron previamente las condiciones de homogeneidad de varianzas y el ajuste de los datos a una distribución normal. Para ello se emplearon las pruebas de Levene y Shapiro-Wilk respectivamente.

La prueba de Levene considera como hipótesis nula que las muestras presentan varianzas iguales y como alternativa que al menos una de las varianzas es diferente de las demás. Se rechaza la hipótesis nula cuando el valor de  $P < 0,05$  (5 %).

El test de Shapiro-Wilk se emplea bajo la hipótesis nula de que los datos siguen una distribución normal y la alternativa de que esta condición no se cumple. Se rechaza nuevamente la hipótesis nula cuando el valor de significancia es menor al 5 %.

Posteriormente se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis que permite detectar las diferencias entre tres o más conjuntos de datos cuantitativos que no sigan cumplan alguna de las condiciones anteriores para el ANOVA.

Para comparar las frecuencias o porcentos de alteraciones en la calidad de la leche se empleó el test Ji-cuadrado de Pearson. Se realizó en todo caso el ajuste o corrección de Yates correspondiente a las tablas 2x2. Para el caso en que no se pudo emplear esta prueba porque las frecuencias por casillas eran muy pequeñas, se empleó entonces el Test Exacto de Fisher.

En todos los casos se consideró significativo un valor de probabilidad de error tipo I menor al 5 %.

### 3.2 COMPORTAMIENTO DE LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS EVALUADOS EN LA LECHE CRUDA

En la tabla 7 se resume el comportamiento de las diferentes variables cuantitativas continuas evaluadas en esta investigación, según las localidades de estudio.

**Tabla 7:** Media y rango de valores de los parámetros físico-químicos evaluados.

LOCALIDAD	GRASA (%P/P)	PROTEÍNAS (%P/P)	DENSIDAD (g/mL)	ACIDEZ (%P/P)	SÓLIDOS TOTALES (%P/P)	SÓLIDOS NO GRASOS (%P/P)
<b>Tarqui</b>	3,5 [2,5-4,5]	3,0 [2,4-3,5]	1,030 [1,024-1,035]	0,13 [0,10-0,16]	12,4 [10,0-14,0]	8,9 [7,5-10,2]
<b>Barabón</b>	3,5 [3,1-3,9]	3,1 [2,9-3,2]	1,030 [1,028-1,032]	0,14 [0,13-0,15]	12,5 [11,8-13,7]	9,0 [8,5-9,5]
<b>Sayausí</b>	3,6 [2,9-4,5]	3,0 [2,8-3,2]	1,030 [1,027-1,032]	0,13 [0,13-0,14]	12,6 [11,7-14,2]	9,0 [8,3-9,7]
<b>NTE INEN 9:2002</b>	≥ 3,0	≥ 2,9	1,028-1,032	0,13-0,17	≥ 11,2	≥ 8,2

**Nota:** los valores entre paréntesis representan los rangos con los valores mínimos y máximos de las correspondientes distribuciones.

El % de grasa es uno de los parámetros considerados de una elevada variabilidad entre todos los que se emplean para evaluar la calidad de la leche. Los valores reportados en estudios similares en Latinoamérica oscilan entre 2,0% y 6,8%. Por otra parte las proteínas han mostrado un rango que abarca desde 2,6% a 3,92%, la acidez desde 0,145% a 0,170%, los sólidos totales entre 9,82% a 16,25%, los sólidos no grasos de 6,4% a 9,54%, y la densidad de 1,029 a 1,034 g/ml. (15,16, 17,18,19,21,22,25,26,28)

Los resultados presentados en este estudio se encuentran mayormente entre los reportados en estas investigaciones anteriores. Las diferencias pudieran estar estrechamente relacionadas a los efectos que ejercen sobre el contenido químico de la leche factores como la raza, el tipo de alimento, la época del año, la región, el tipo de manejo y el almacenamiento entre otros (15,18,21,26,27,28).

Al tratar de determinar si existen diferencias entre las medias de más de dos localidades, se decide valorar si se puede aplicar el test paramétrico de Análisis de Varianza de una vía o ANOVA. Para la aplicación del mismo se deben cumplimentar algunas condiciones como son: la toma de muestras aleatorias, el ajuste de los datos a una distribución normal y la homogeneidad de varianzas entre otras. (23) Considerando que el primero de los planteamientos es cumplido, se analizó entonces los otros dos.

El test de Shapiro-Wilk es considerada la prueba estadística más potente para detectar el ajuste de una distribución de frecuencias de datos cuantitativos a una curva normal, sobre todo cuando los tamaños muestrales son inferiores a 50. (24)

En el presente estudio las muestras de dos de las regiones estudiadas fueron relativamente pequeñas (12 unidades muestrales) lo que justifica la aplicación de esta prueba. Sus resultados se resumen en la tabla 8.

**Tabla 8:** Probabilidad de error (P) al rechazar la hipótesis de que los datos se ajustan a una distribución normal. Prueba de normalidad de Shapiro –Wilk.

LOCALIDAD	VARIABLE					
	GRASA (%P/P)	PROTEÍNAS (%P/P)	DENSIDAD (g/mL)	ACIDEZ (%P/P)	SÓLIDOS TOTALES (%P/P)	SÓLIDOS NO GRASOS (%P/P)
Tarqui	0,816	0,080	0,001	<0,001	0,036	0,002
Barabón	0,329	0,009	0,021	0,006	0,303	0,074
Sayausí	0,247	0,495	0,105	<0,001	0,153	0,890

Los resultados anteriores indican que solo en uno de los casos (% de Grasa) los datos de las tres regiones de estudio se ajustan a una distribución normal con valores de  $P > 0,05$ .

Por su parte el análisis de la homogeneidad de varianzas a través de la prueba de Levene sugirió un comportamiento similar, siendo consideradas iguales u homogéneas las varianzas de los tres grupos de muestras estudiados en el caso de las variables % de Grasa y Sólidos Totales (tabla 9). La prueba de Levene es considerada una de las más potentes para detectar las diferencias entre las varianzas de poblaciones con distribuciones de variables alejadas de la normalidad. (20)

En ninguno de los estudios consultados con propósitos similares al presente se indica el análisis o cumplimiento de los supuestos para plantear un ANOVA en la comparación de las medias de diferentes grupos o zonas. Esta investigación sugiere que las distribuciones de frecuencias de algunos de los parámetros comúnmente utilizados para evaluar la calidad de la leche no siguen una distribución normal ni presentan homogeneidad de varianzas, lo que limita el uso de las pruebas paramétricas en la búsqueda de diferencias significativas entre las medias.

**Tabla 9:** Probabilidad de error ( $P$ ) al rechazar la hipótesis de que las distribuciones muestrales poseen iguales varianzas. Prueba de homogeneidad de Levene.

	VARIABLE					
	GRASA (%P/P)	PROTEÍNAS (%P/P)	DENSIDAD (g/mL)	ACIDEZ (%P/P)	SÓLIDOS TOTALES (%P/P)	SÓLIDOS NO GRASOS (%P/P)
<b>P</b>	0,088	0,028	0,049	0,007	0,284	0,045

Al no cumplirse la condición de la distribución normal de los valores de Sólidos Totales en algunas de las zonas de estudio (tabla 8), y al ser el valor de Probabilidad de error ( $P$ ) menor del 10 % en el caso del % de Grasa si se rechazara la hipótesis de que las varianzas sean iguales (tabla 9), se decide

entonces aplicar una prueba no paramétrica de alcance similar al ANOVA. En este caso se seleccionó el Test de Kruskal-Wallis que no considera la distribución normal de los datos.

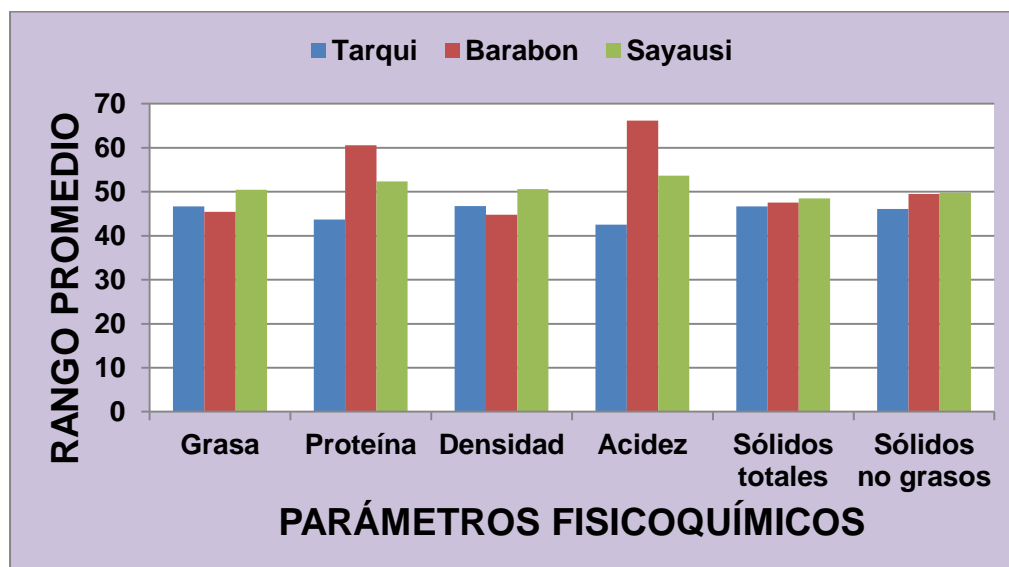
El Test de Kruskal-Wallis se utiliza para probar si son iguales las medianas de los datos muestrales de tres o más poblaciones independientes, a través de la asignación de un rango o posicionamiento de los mismos según un orden escogido. (23) Los resultados de esta prueba se resumen en la tabla 10.

**Tabla 10:** *Análisis de Kruskal-Wallis para las medianas de las muestras de las zonas de estudio. Se presentan la mediana y los valores de Probabilidad de error (P) para el rechazo de la hipótesis de que las medianas sean iguales.*

LOCALIDAD	VARIABLE					
	GRASA (%P/P)	PROTEÍNAS (%P/P)	DENSIDAD (g/mL)	ACIDEZ (%P/P)	SÓLIDOS TOTALES (%P/P)	SÓLIDOS NO GRASOS (%P/P)
Tarqui	3,50	2,9	1,03	0,13	12,5	9,00
Barabón	3,50	3,1	1,03	0,14	12,5	9,00
Sayausí	3,65	3,0	1,03	0,13	12,5	8,95
P	0,883	0,098	0,852	0,008	0,974	0,850

Según los resultados anteriores se puede decir que las medianas de la acidez difieren entre las localidades de estudio, siendo tal vez ligeramente superior en la región de Barabón. Por su parte el parámetro proteínas también debe ser considerado ya que su valor de P estuvo cerca de la significancia, indicando que si se rechazara la hipótesis de que las medianas fueran iguales, se cometería en este caso un error inferior al 10%.

Para que puedan observarse mejor los planteamientos anteriores se graficaron los rangos promedios de los datos de cada variable por localidad o zonas de estudio (Gráfico 2).



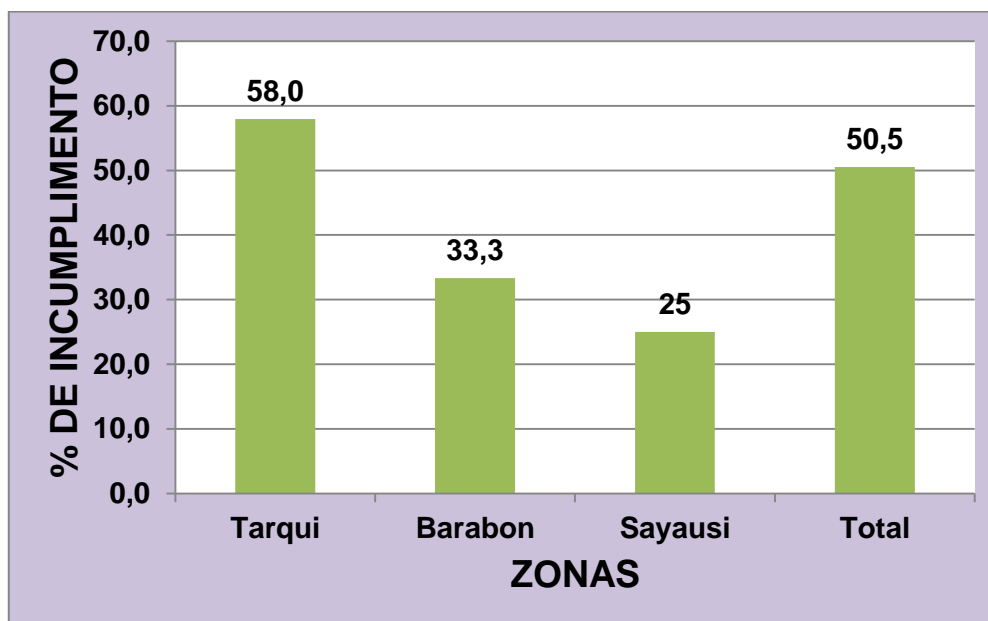
**Gráfico 2:** Rangos promedios de cada variable según zona de estudio.

Los resultados muestran que la leche proveniente de Barabón presenta una mayor acidez titulable (rango = 67,17) mientras que la que provino de Tarqui tenía menor valor de este parámetro (rango = 42,51). Algo similar parece ocurrir con el contenido de proteínas.

Varios autores indican que la calidad de la leche suele variar mucho de una región a otra, empleando aún animales de la misma raza. Esto puede estar relacionado tanto por la época del año (sequía o lluvia), el rendimiento lechero, el tipo de alimento, el manejo integral de la leche, entre otras. (15, 18, 21, 26, 27,28)

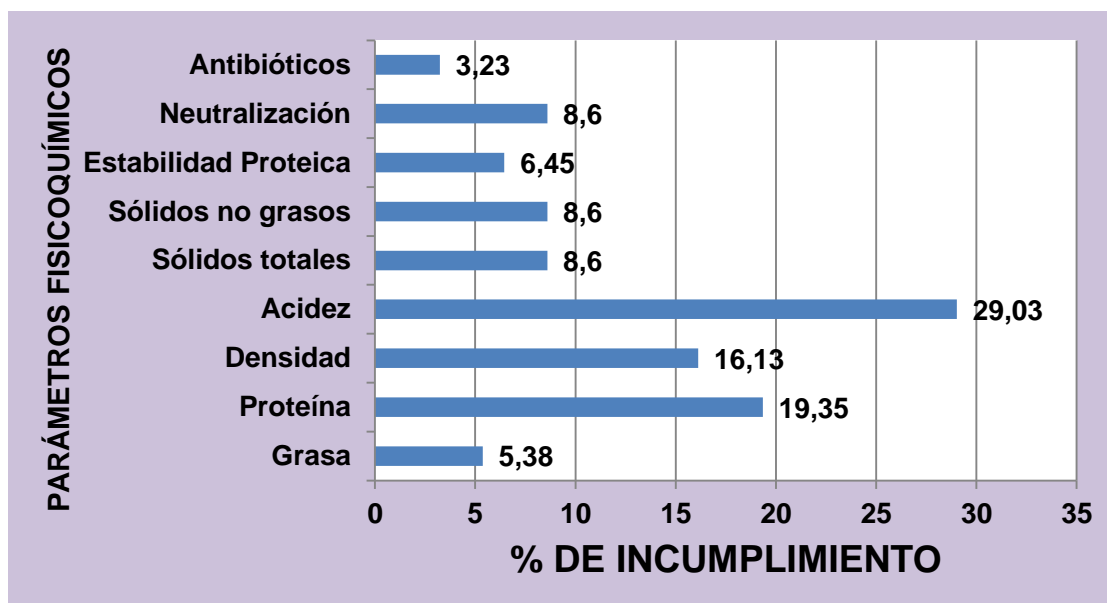
### 3.3 ANÁLISIS DE LA CALIDAD DE LA LECHE CRUDA SEGÚN LAS LOCALIDADES DE ESTUDIO

La comparación de los resultados obtenidos con los valores establecidos en la NTE INEN 9:2012 para la calidad de la leche indica que una de cada dos muestras (50,53%) tomadas presentó algún parámetro alterado. Los mayores problemas se detectaron en la leche proveniente de Tarqui (58,0 %) seguida de las de Barabón (33,3%) y Sayausí (25,0 %) (Gráfico 3).



**Gráfico 3:** Porcentaje de incumplimiento de la NTE INEN 9:2012 para la calidad de la leche según zonas de estudio (Ji-cuadrado de Pearson:  $X^2 = 6,0769$ ; 2 gl;  $P=0,0479$ ).

Asimismo, el análisis de cada parámetro por separado indica que la calidad se afectó mayormente por valores de acidez titulable, proteínas y densidad relativa fuera del rango permitido. La presencia de antibióticos y el % grasa fueron las que menos afectaciones mostraron (Gráfico 4).

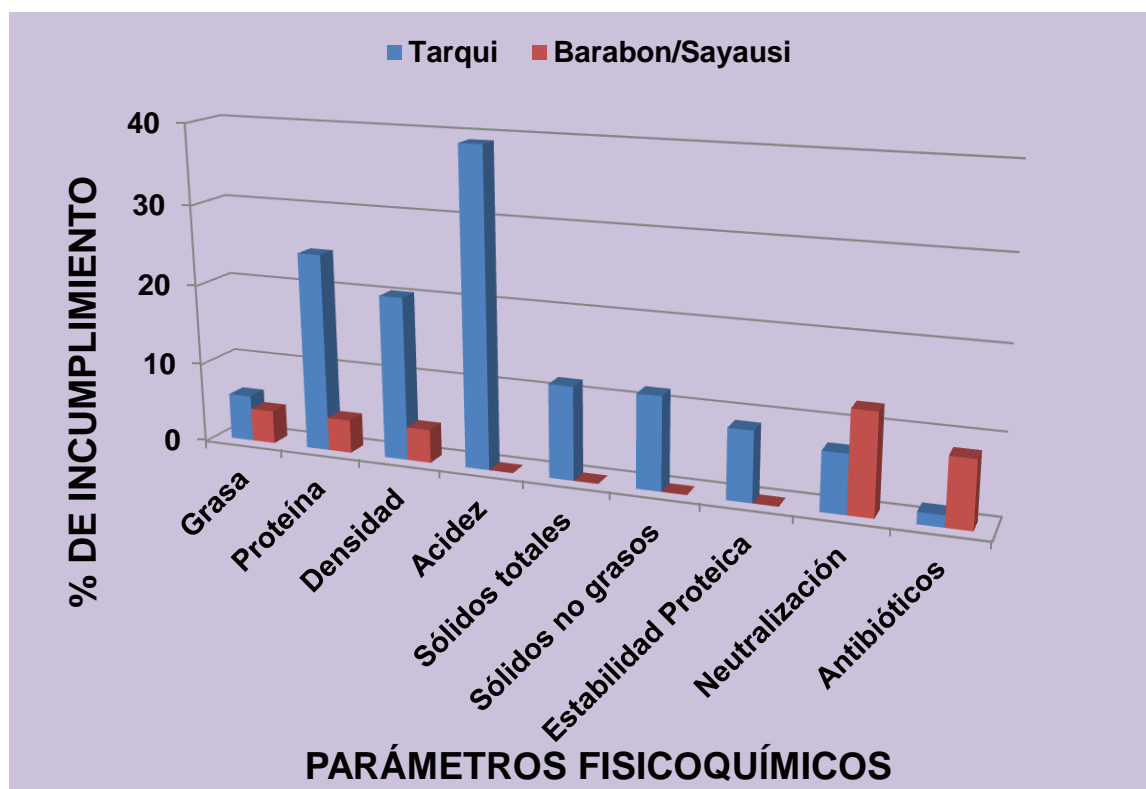


**Gráfico 4:** Porcentaje de incumplimiento de la NTE INEN 9:2012 para la calidad de la leche según parámetro de estudio (Ji-cuadrado de Pearson:  $X^2 = 49,1877$ ; 8 gl;  $P<0,0001$ ).



Los parámetros proteínas y acidez titulable mostraron un comportamiento diferente en cuanto al % de incumplimientos entre las localidades de estudio ( $P = 0,022$  y  $P < 0,001$ , respectivamente), siendo superiores en Tarqui respecto a las demás zonas (Gráfico 5).

Se debe considerar además que los valores de densidad relativa, sólidos totales y sólidos no grasos mostraron una probabilidad de error ( $P$ ) inferior al 10% si se rechazara la hipótesis de que las proporciones de incumplimiento son similares entre sí. Lo anterior hace suponer que quizás con un mayor tamaño muestral puedan detectarse diferencias entre estas variables por zonas (Gráfico 5).



**Gráfico 5:** Comportamiento de los incumplimientos de los parámetros de estudio según zona evaluada.

En la literatura consultada se encontraron muy pocos resultados que abordaran el incumplimiento de las normas de calidad de la leche de la forma en que se trató en el presente trabajo. Aquí, además de reportar los valores medios y la mediana de los parámetros evaluados se indica la frecuencia de incumplimiento de la norma ecuatoriana NTE INEN 9:2012.

De este modo se observó que aún en casos en los que la media de los valores dados para cada parámetro está dentro de los límites permisibles, se encontró una muy elevada frecuencia de incumplimiento de la NTE INEN 9:2012, especialmente en cuanto a la acidez, el contenido proteico y la densidad.

La acidez es uno de los indicadores de contaminación microbiana relacionada con la fermentación láctica de los azúcares de la leche. Esto es uno de los elementos más comúnmente asociado a las malas prácticas en el manejo productivo de este alimento. Los pequeños o grandes productores que representan el sustento de familias son los que más frecuentemente parecen presentar alteraciones microbiológicas. (15, 17,26)

En un estudio realizado sobre indicadores fisicoquímicos de la leche cruda comercializada en diferentes zonas de Colombia se observó que cerca de un 16% presentaba alteraciones del contenido proteico. Asimismo, un 45% de los valores de contenido graso fueron superiores a 3,5% y un 69,2% con valores de sólidos totales mayores a 12% (18). Considerando la mediana de estos valores en el presente estudio se puede concluir que de forma general concuerdan con los planteados en la investigación anterior.

Entre las malas prácticas en la producción de la leche cruda se encuentra la adición de agua a la leche cruda. Esta acción se relaciona a una alteración de casi todos los parámetros indicadores de su calidad. Un estudio mexicano en más de 360 muestras indicó que un 6,4% de ellas tenían indicios de adulteración con agua. Las variables más sensibles a la adición de líquido fueron la densidad relativa y el contenido de proteínas (16), justo dos de los parámetros con más frecuencia de alteraciones en la presente pesquisa. Un cálculo preliminar considerando las ecuaciones propuestas por dichos autores sugiere que más del 50% de las muestras de leche de este estudio presentaron indicios de adulteración, lo cual resulta sin dudas preocupante.

La presencia de antibióticos es otro importante elemento que limita la calidad de la leche cruda. En un trabajo argentino en el que se valoró el comportamiento de

este parámetro desde 1993 hasta 2009 se detectaron restos de antibióticos en un 0,36% de las muestras (26), muy inferior al reportado en el presente estudio. (3,23%) Nuevamente las diferencias en cuanto a las regiones, los métodos de estudio, las razas estudiadas, la alimentación o el clima pudieran marcar las diferencias.

El límite actual de grasa establecido por parte de la INEN NTE 9:2012, permite que se realice un desengrasado de la leche mediante el aguado, por tal razón hay leches con grasa baja, pero dentro del límite pudiéndose encontrar leches que se presentan con un 3 - 3,1% P/P de grasa, mientras que otras presentan 4 - 4,5% P/P de grasa.



# **CAPITULO IV**

# **CONCLUSIONES**

# **Y**

# **RECOMENDACIONES**

## **CAPITULO IV: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **4.1 CONCLUSIONES**

- Se concluye que la leche cruda que ingresa a ser comercializada en la ciudad de Cuenca incumple la NTE INEN 9:2012.
- La leche analizada presentó valores medios dentro del rango permitido, aun así, presentó un elevado porcentaje (50,53%) de incumplimiento de la norma vigente.
- Los indicadores más afectados fueron la acidez titulable, el contenido proteico y la densidad relativa.
- La zona con más problemas en la calidad de la leche fue Tarqui, con más del 50 % de las muestras con algún parámetro alterado, mientras que las zonas de Sayausí y Barabón se establecen como las zonas de menor problema.

## 4.2 RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio de calidad durante un período más largo donde se evalúe el comportamiento temporal de los parámetros de calidad analizados o realizar un estudio de cuantificación de agua y como esta influye en cada parámetro.
- Incluir otros parámetros de calidad para evaluar la leche de las diferentes zonas *in situ*.
- Establecer las pautas para el diseño, confección e implantación de un sistema de gestión de la calidad de la leche cruda que se comercializa en la ciudad de Cuenca.
- Se recomienda realizar charlas instructivas para los consumidores que aprendan a identificar una leche de calidad, a los productores y comerciantes sobre la importancia de entregar una leche de calidad.

# **BIBLIOGRAFIA Y REFERENCIAS**

**BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS**

1. Magariños, H. (2008). Producción higiénica de leche (en línea). Chile. Disponible en:  
[http://www.science.oas.org/oea\\_gtz/LIBROS/LA\\_LECHE/leche\\_all.pdf](http://www.science.oas.org/oea_gtz/LIBROS/LA_LECHE/leche_all.pdf) (Acceso el 23 de Julio de 2013)
2. Franklin B. (2011). El libro blanco de la leche y los productos lácteos. (en línea). México: Canilec. Disponible en:  
<http://www.yumpu.com/es/document/view/16270502/el-libro-blanco-de-la-leche-y-los-productos-lacteos-canilec-fepale> (Acceso el 26 de julio de 2013,
3. Colcha C (2011). Revisión de literatura de la leche (en línea). Disponible en:  
<http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/390/3/03%20AGI%20259%20REVISI%C3%93N%20DE%20LITERATURA.pdf> (Acceso el 26 de julio de 2013)
4. INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (2012). NTE INEN 9:2012 Quinta revisión (en línea). Disponible en:  
<http://www.inen.gob.ec/images/pdf/nte/9-5.pdf> (Acceso 26 de julio de 2013)
5. Kukilinski, C (2003). Nutrición y Bromatología, Chile: Edición Omega páginas: 213-216.
6. Revilla, A. (2008). TECNOLOGÍA DE LA LECHE. (en línea). Panamá. , disponible en:  
<http://books.google.com.ec/books?id=miAPAQAIAAJ&printsec=frontcover&dq=CIENCIA+DE+LA+LECHE&hl=es-419&sa=X&ei=Ej7xUYGIJInk8gTEzICgCw&ved=0CD0Q6AEwAw#v=snippet&q=sabor&f=false> (Acceso el 25 de julio de 2013)



7. Celis M. (2009). Microbiología de la Leche. (en línea) Disponible en: [http://www.edutecne.utn.edu.ar/sem\\_fi\\_qui\\_micrb\\_09/microbiologia\\_leche.pdf](http://www.edutecne.utn.edu.ar/sem_fi_qui_micrb_09/microbiologia_leche.pdf)(Acceso el 25 de julio de 2013,
8. Wattiaux, M.A. (2009). Composición de la leche y valor nutricional. (en línea ) Disponible en: [http://babcock.wisc.edu/sites/default/files/de/es/de\\_19.es.pdf](http://babcock.wisc.edu/sites/default/files/de/es/de_19.es.pdf)(Acceso el 26 de julio de 2013,
9. Alais, C. (2003). Ciencia de la leche. (en línea). España: Reverte. Disponible en: [http://books.google.com.ec/books?id=bW\\_ULacGBZMC&printsec=frontcover&dq=CIENCIA+DE+LA+LECHE&hl=es-419&sa=X&ei=Ej7xUYGIJInk8gTEzICgCw&ved=0CDEQ6AEwAA#v=onepage&q=densidad&f=false](http://books.google.com.ec/books?id=bW_ULacGBZMC&printsec=frontcover&dq=CIENCIA+DE+LA+LECHE&hl=es-419&sa=X&ei=Ej7xUYGIJInk8gTEzICgCw&ved=0CDEQ6AEwAA#v=onepage&q=densidad&f=false)(Acceso el 25 de julio de 2013)
10. Instituto Nacional de investigaciones forestales, agrícolas y pecuarias centro nacional de investigación disciplinaria en microbiología animal Cuajimalpa, d. f. (2011). Mejora continua de la calidad higiénico-sanitaria de la leche de vaca. (en línea). Disponible en: [http://utep.inifap.gob.mx/pdf\\_s/MANUAL%20LECHE.pdf](http://utep.inifap.gob.mx/pdf_s/MANUAL%20LECHE.pdf)(Acceso el 25 de julio de 2013,
11. La universidad del Zulia facultad de ciencias veterinarias, departamento de producción e industria animal, (2008). Cátedra de ciencias y tecnología de la leche, determinación de grasa y sólidos totales en leche y derivados. (en línea) Disponible en: [http://www.revistavirtualpro.com/files/ti27\\_200512.pdf](http://www.revistavirtualpro.com/files/ti27_200512.pdf)(Acceso el 25 de julio de 2013)
12. Hernández, J.A. (2009). Manual de Practicas de Análisis de Alimentos. (en línea) Disponible en:

<http://www.scribd.com/doc/48772402/13/DETERMINACION-DE-PROTEINA-EN-LECHE> (Acceso el 25 de julio de 2013)

13. Federación internacional de lechería, (2010). Adulterantes en leche. (en línea). Disponible en: <http://www.docstoc.com/docs/110949891/Adulterantes-en-leche>(Acceso el 26 de julio de 2013)
14. Balbero, J.E. (2011). Determinación de residuos de antibióticos en la leche de vaca en las plantas procesadoras de productos lácteos en el departamento de sucre. (en línea). Disponible en: <http://biblioteca.unisucra.edu.co:8080/dspace/bitstream/123456789/460/1/T636.127%20B172.pdf>(Acceso el 26 de julio de 2013)
15. Álvarez-Fuentes G, Herrera-Haro JG, Alonso-Bastida G, Barreras-Serrano A. (2012). Calidad de la leche cruda en unidades de producción familiar del sur de la Ciudad de México. Arch Med Vet; 44:237-42.(en línea).disponible en: <http://www.yumpu.com/es/document/view/17958207/calidad-de-la-leche-cruda-en-unidades-de-produccion-familiar-del->(Acceso el 23 de noviembre de 2013)
16. Bernal Martínez LR, Rojas Garduño MA, Vázquez Fontes C, Espinoza Ortega A, Estrada Flores J, Castelán ortega OA. (2007). Determinación de la calidad fisicoquímica de la leche cruda producida en el sistema campesino en las regiones del estado de México. Vet Mex;38(4):395-407.(en línea) .disponible en: <http://www.revistas.unam.mx/index.php/rvm/article/view/13373>(Acceso el 23 de noviembre de 2013)
17. Botero L, Vertel M, Florez L, Medina J, (2012) Calidad composicional e higiénico-sanitaria de leche cruda esntrelazada en época seca por productores de Galeras, Sucre. Vitae (Supl 1):S314-S316. (en línea).

- disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169823914097>(Acceso el 23 de noviembre de 2013)
18. Calderón A, García F, Martínez G. (2006). Indicadores de calidad de las leches crudas en las diferentes regiones de Colombia. *Rev MVZ Córdoba*;11(1):725-37.(en línea).disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0122-02682006000100006&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0122-02682006000100006&script=sci_arttext)(Acceso el 23 de noviembre de 2013)
19. Cervantes Escoto F, Cesín Vargas A, Mamani Oña I. (2013). La calidad estándar de la leche en el estado de Hidalgo, México. *Rev Mex Cienc Pecu*;4(1):75-86. (en línea). disponible en: <http://ibsa.mx/~inifap4/index.php/Pecuarias/article/view/2827/2373>(Acceso el 23 de noviembre de 2013)
20. Correa JC, Iral R, Rojas L. ( 2006). Estudio de potencia de pruebas de homogeneidad de varianza. *Rev Col de Estadíst*; 29: 57–76. (en línea). Disponible en : <http://ibsa.mx/~inifap4/index.php/Pecuarias/article/view/2827/2373>(Acceso el 23 de noviembre de 2013)
21. De los Reyes González G, Molina Sánchez B, Coca Vázquez R. Calidad de la leche cruda. (2010). Primer Foro sobre Ganadería Lechera de la Zona Alta de Veracruz., 10 págs. (en línea). disponible en: [http://www.uv.mx/apps/agronomia/foro\\_lechero/Bienvenida\\_files/CALIDAD\\_DELALECHECRUDA.pdf](http://www.uv.mx/apps/agronomia/foro_lechero/Bienvenida_files/CALIDAD_DELALECHECRUDA.pdf)(Acceso el 23 de noviembre de 2013)
22. García de Ruiz CD, Guzmán Torres E, Zaldívar Quintero G. ( 2013) Parámetros físico-químicos de leche cruda. *Rev Prod Anim*;25(1):4-7. (en línea). Disponible en : <http://www.reduc.edu.cu/147/13/1/147130103.pdf>(Acceso el 23 de noviembre de 2013)

23. Guerra Bustillo CW, Menéndez Acuña E, Barrero Morera R, Egaña Morales E. (1987) Estadística. Editorial Pueblo y Educación, La Habana, 375 págs.(en línea). Disponible en : <http://revistas.mes.edu.cu/greenstone/collect/repo/import/repo/20110505/9789592584211.pdf>(Acceso el 23 de noviembre de 2013)
24. Mohd Razali N and Ben Wah Y. (2011). Power comparison of Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors and Anderson-Darling tests. J Stat Model Anal 2011;2(1):21-33. (en línea). Disponible en: <http://instatmy.org.my/downloads/e-jurnal%202/3.pdf>(Acceso 23 de noviembre de 2013)
25. Pérez L, López N, Salas K, Spaldiliero A, Verde O. (2002). Características físico-químicas de la leche cruda en las zonas de Aroa y Yaracal, Venezuela. Rev Científica, FCV-LUZ;XII(2):113-120. (en línea). Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61412208> (Acceso 23 de noviembre de 2013)
26. Revelli Gr, Sbodio OA, Tercero EJ. (2009). Estudio y evolución de la calidad de la leche cruda en tambos de la zona noroeste de Santa Fe y sur de Santiago del Estero, Argentina RIA 2011;37(2)128-139. (en línea). Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/864/86421189005.pdf> (Acceso 23 de noviembre de 2013)
27. Román S, Guerrero L, Pacheco L. (2003). Evaluación de la calidad fisicoquímica, higiénica y sanitaria de la leche cruda almacenada en frío. Rev Científica FCV\_LUZ;XIII(2):146-52. (en línea). Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/27925/2/articulo9.pdf> (Acceso 23 de noviembre de 2013)
28. Sánchez MD, Boscón LA, De Jongh F (1996). Características físico-químicas y sanitarias de la leche del estado de Mérida, Venezuela. I. Zonas



altas. Rev Científica, FCV-LUZ; VI(2):99-110. (en línea). Disponible en:  
<http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/26969/2/articulo5.pdf>.  
(Acceso 23 de noviembre de 2013)

# ANEXOS

## Anexo 1.

## Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 4. Primera Revisión. LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS. MUESTREO.

CCU: 637.127.6	<div>INEN</div>	AL 03.01-201
Norma Técnica Ecuatoriana	LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS. MUESTREO	INEN 4 Primera Revisión
1. OBJETO		
1.1 Esta norma establece los procedimientos para la extracción de muestras de leche y productos lácteos.		
2. TERMINOLOGIA		
2.1 Partida. Es la cantidad de material de características similares que satisface totalmente un pedido.		
2.2 Lote. Es cualquier cantidad de material de características similares, provenientes de una fuente común.		
2.3 Unidad de muestreo. Es una porción de material o un artículo individual, extraído al azar de un lote.		
2.4 Muestra. Es el conjunto de unidades de muestreo que se usa como información de la calidad de un lote.		
3. DISPOSICIONES GENERALES		
3.1 Tamaño de la muestra		
3.1.1 En casos de discrepancia o ilógico, deberán tomarse las muestras de un mismo lote.		
3.1.2 Podrá usarse como unidad de muestreo el contenido total de un envase pequeño destinado a la venta al por menor, en cuyo caso el envase original no deberá abrirse o alterarse.		
3.1.3 Para productos envasados en recipientes voluminosos, cada muestra deberá integrarse seleccionando al azar el número de recipientes indicados en la Tabla 1, extrayendo de cada uno de ellos una unidad de muestreo de masa o volumen igual al especificado para cada producto en el capítulo 5.		
TABLA 1. Muestreo para unidades voluminosas		
Tamaño del lote	Unidades para muestreo	
1	1	
2 - 5	2	
6 - 60	3	
61 - 80	4	
81 - 100	5	
más de 100	*	
* 4, más 1 por cada 2 500 unidades adicionales o fracción de tal cantidad.		
(Continúa)		

## INTE INEN 4

3.1.4 Para productos envasados o empacados en recipientes o unidades pequeñas, cada muestra deberá formarse extrayendo al azar el número de unidades o recipientes indicados en la Tabla 2; cada unidad o envase constituirá una unidad de muestreo (ver 3.1.2).

TABLA 2. Muestreo para unidades pequeñas

Tamaño del lote	Unidades para muestreo
menos de 100	1
101 - 1 000	2
1 001 - 10 000	3
más de 10 000	*
* 4, más 1 por cada 2 500 unidades adicionales o fracción de tal cantidad	

## 3.2 Condiciones pequeñas al muestreo

3.2.1 Deberá fijarse a cada muestra una tarjeta que incluya un número de identificación y la fecha de muestreo.

3.2.2 Los envases o empaques que contengan las unidades de muestreo deberán sellarse y marcarse con las rubricas de las partes interesadas, y deberá suscribirse una acta de muestreo que incluya la siguiente información:

- número de la norma INEN de referencia: INEN 4.
- número de identificación de la muestra,
- fecha de muestreo,
- nombre del producto y marca comercial,
- identificación del lote o de la partida;
- masa o volumen total del lote o de la partida;
- número de unidades de muestreo obtenidas;
- lugar de procedencia del producto,
- lugar de toma de las muestras,
- observaciones que se consideren necesarias, y
- nombres, firmas y direcciones de las partes interesadas.

3.2.3 Las tres muestras deberán destinarse, respectivamente, al fabricante o distribuidor, a un laboratorio de análisis y a la entidad que deba actuar en caso de discrepancia.

3.2.4 La muestra destinada al laboratorio deberá enviarse tan pronto como sea obtenida, tomando precauciones durante el transporte para que no haya exposición directa del producto a la luz y para que la temperatura no sea menor de 0°C ni mayor de 10°C. Cuando las muestras sean destinadas a examen microbiológico, deberá usarse un recipiente aislado que permita mantener una temperatura comprendida entre 0°C y 5°C, excepto en el caso de productos lácteos en conserva envasados en sus recipientes originales, o en el caso de distancias cortas de transporte. Las muestras de queso deberán mantenerse en condiciones que eviten la separación de grasa o humedad, y el queso fresco deberá mantenerse siempre a una temperatura comprendida entre 0°C y 5°C.

(Continúa)



**NTE INEN 4**

3.2.6 Para resolver en casos de discrepancia, las muestras restantes deberán almacenarse en refrigerador (ver 3.2.6) a una temperatura comprendida entre 0°C y 5°C, durante un tiempo no mayor de siete días si los ensayos no son microbiológicos, y 24 h si son microbiológicos; al cabo de este tiempo las muestras deberán eliminarse adecuadamente.

3.2.6 Podrá añadirse un preservador adecuado a las muestras de productos líquidos o quesos, cuando éstas se destinan a análisis químico o físico, siempre que el mismo no interfiera con el análisis. En tales casos, la naturaleza del preservador y la cantidad añadida deberán indicarse en la etiqueta de la muestra y en cualquier informe relativo al muestreo. No deberán añadirse preservadores a las muestras de productos sólidos o semisólidos (excepto queso) o a las muestras destinadas a ensayos microbiológicos.

3.2.7 Las unidades de muestreo podrán mezclarse antes del análisis o examinarse individualmente, según el criterio del laboratorio de análisis o por solicitud expresa de las partes interesadas.

**4. INSTRUMENTAL****4.1 Características generales**

4.1.1 El instrumental destinado a tomar muestras para análisis químico, físico o fisicoquímico, deberá estar completamente limpio y seco.

4.1.2 El instrumental destinado a tomar muestras para análisis microbiológico deberá estar completamente limpio y seco; además, deberá esterilizarse mediante uno de los métodos siguientes:

- Exposición al aire caliente a 170°C durante 2 horas. Después de esta operación, el instrumental podrá guardarse si se mantiene condiciones estériles.
- Exposición al vapor a 120°C, en autoclave, durante 20 min. Después de esta operación, el instrumental podrá guardarse si se mantienen condiciones estériles.
- Exposición al vapor a presión atmosférica durante 1,5 horas. Después de esta operación, el equipo deberá usarse el mismo día.
- Inmersión al alcohol etílico al 70% (V/V) y exposición a la llama hasta eliminar el alcohol, inmediatamente antes del uso.
- Exposición a una llama de gas (propano, butano), inmediatamente antes del uso, de modo que todas las superficies útiles del instrumental entren en contacto con la llama.

La elección del método de esterilización dependerá de la naturaleza, forma y tamaño del instrumental, y de las condiciones del muestreo. Se recomienda emplear, siempre que sea posible, el método a) o el b).

4.1.3 Los envases destinados a contener muestras líquidas deberán reunir las siguientes características:

- ser de vidrio resistente a los métodos de esterilización descritos en 4.1.2;
- tener forma y capacidad adecuadas para contener la muestra o la unidad de muestreo y permitir su mezcla mediante agitación;

(Continúa)

## NTE INEN 4

- c) estar provistos de cierre hermético que evite la contaminación o alteración del producto. El cierre puede ser tapón de caucho o plástico, o tapa roscada de metal inoxidable o plástico, revestida interiormente con un sello de material plástico, impermeable, insoluble, no atacable por las grasas y que no influya en el olor, sabor o composición del producto;
- d) si se usan tapones de caucho, éstos deben cubrirse con un material plástico adecuado antes de colocarlos y presionarlos en el recipiente.

**4.1.4** Los envases destinados a contener muestras sólidas o semisólidas deberán reunir las siguientes características:

- a) ser de vidrio o de material plástico resistente a los métodos de esterilización descritos en 4.1.2;
- b) tener boca ancha y capacidad adecuada para recibir y contener la muestra o la unidad de muestreo, y permitir su mezcla mediante agitación;
- c) estar provisto de cierre hermético que evite la contaminación o alteración del producto; el cierre debe ser tapa roscada de metal inoxidable o plástico, revestida interiormente con un sello de material plástico, impermeable, insoluble, no atacable por las grasas y que no influya en el olor, sabor o composición del producto.

**4.1.6** El instrumental usado para la mezcla del producto y la extracción de muestras será, preferentemente, de acero inoxidable o aluminio, pero podrá usarse otros materiales adecuados (ejemplo: material estañado). Todas las superficies deberán ser lisas y no presentar hendiduras o salientes. Cuando existan soldaduras, éstas deberán ser capaces de resistir una temperatura de esterilización de 180°C.

## 4.2 Dispositivos

**4.2.1** Agitador de disco pequeño. Construido de acuerdo a la figura A.1 para productos contenidos en recipientes de varios litros de capacidad.

**4.2.2** Agitador de disco grande. Construido de acuerdo con la figura A-2 para productos contenidos en recipientes, tanques o depósitos de gran capacidad.

**4.2.3** Sacamuestras para mantequilla. Similar al indicado en la figura A.3, de longitud suficiente para atravesar al recipiente que contiene el producto, diagonalmente hasta su base.

**4.2.4** Sacamuestras para queso. Similar al indicado en la figura A.4 de dimensiones adecuadas al tipo de queso que debe muestrearse.

**4.2.6** Sacamuestras para leche en polvo. Similar al indicado en la figura A.5. Debe tener un largo comprendido entre 40 y 50 cm y un diámetro exterior de aproximadamente 40 mm, y estar formado por dos tubos concéntricos de aluminio provistos de ranuras que puedan abrirse o cerrarse al girar el tubo interior. El tubo exterior debe terminar en punta para facilitar la penetración.

**4.2.6** Cucharón, de capacidad no menor de 85 cm<sup>3</sup> (ver figura A.6).

**4.2.7** Cucharas, de acero inoxidable.

(Continúa)

## NTE INEN 4

4.2.8. Espátulas, de acero inoxidable.

4.2.9. Cuchillos, de acero inoxidable, con hoja terminada en punta.

## 5. PROCEDIMIENTO

5.1 Leche y productos lácteos líquidos. (exceptuando la leche condensada y la leche evaporada). Debe aplicarse el siguiente procedimiento:

5.1.1 Mezclar completamente el producto, transvasándolo varias veces de un recipiente a otro, o agitándolo adecuadamente con un agitador de disco (ver 4.2.1 y 4.2.2).

5.1.2 En el caso de muestrear crema, debe usarse uno de los agitadores de disco (ver 4.2.1 y 4.2.2), según el tamaño del recipiente, sumergiéndolo un número suficiente de veces para asegurar una mezcla completa del producto. El agitador debe moverse cuidadosamente para evitar la formación de espuma o el efecto del batido.

5.1.3 Inmediatamente después de la agitación, tomar una unidad de muestreo no menor de 200 cm<sup>3</sup> mediante un cucharón y transferirla a un envase adecuado (ver 4.1.4).

5.1.4 Si hay dificultades para homogeneizar el producto, deben mostrarse porciones de diferentes lugares del recipiente hasta totalizar la cantidad requerida.

5.1.6 Si el producto está envasado en recipientes pequeños para la venta, la muestra debe tomarse de acuerdo con lo indicado en 3.1.4, y los recipientes no deben abrirse hasta el momento del análisis.

5.2 Leche condensada y leche envasada. Debe aplicarse el siguiente procedimiento:

5.2.1 Si el producto está contenido en recipientes voluminosos, mezclar el contenido del recipiente usando un agitador de disco (ver 4.2.1 y 4.2.2) u otro dispositivo adecuado, cuidando de raspar e incorporar el material adherido a la pared y al fondo del recipiente. Extraer, con un cucharón o un dispositivo adecuado, 2 a 3 litros del producto y transferirlos a un recipiente más pequeño, repetir la agitación, tomar una unidad de muestreo no menor de 200 cm<sup>3</sup> y guardarla en un envase adecuado (ver 4.1.4).

5.2.2 Si el producto está envasado en recipientes pequeños para la venta, la muestra debe tomarse de acuerdo con lo indicado en 3.1.4 y los recipientes no deben abrirse hasta el momento del análisis.

5.3 Leche en polvo y productos lácteos en polvo. Debe realizarse primero el muestreo para examen microbiológico y luego, sobre el mismo recipiente, el muestreo para análisis químico y examen organoléptico. Deben aplicarse los siguientes procedimientos:

5.3.1 Muestreo para examen microbiológico. Usando una cuchara estéril (ver 4.1.2) de acero inoxidable, retirar la capa superior de polvo de la zona de muestreo. Con otra cuchara estéril, tomar una unidad de muestreo de 50 a 200 g. de ser posible de un punto cercano al centro del recipiente. Transferir la porción extraída, tan pronto

(Continúa)

INTE INEN 4

## ANEXO A

## DISPOSITIVOS DE MUESTREO

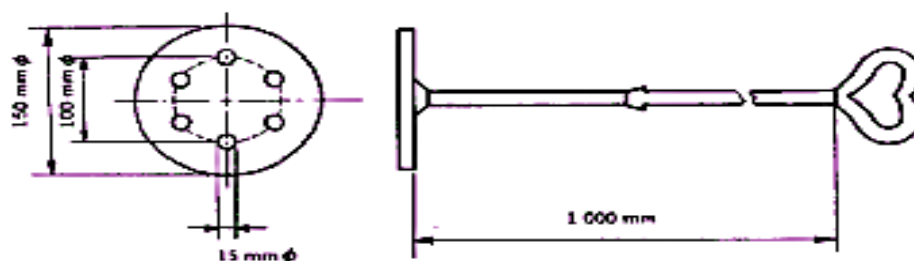


FIGURA A.1 Agitador de disco pequeño

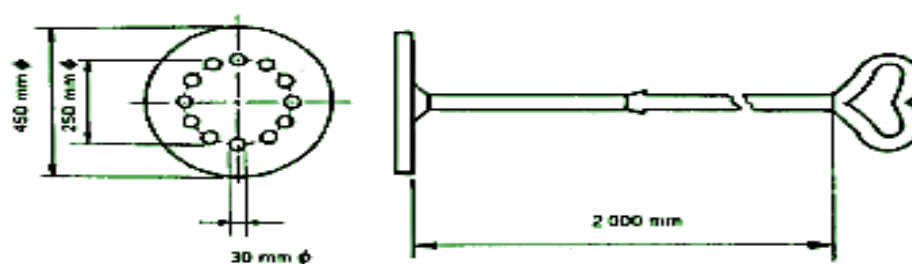


FIGURA A.2 Agitador de disco grande

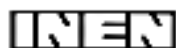


FIGURA A.6 Cucharón

(Continúa)

**Anexo 2.**

**Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 9:2012. Quinta Revisión. LECHE  
CRUDA REQUISITOS. Primera Edición.**



**INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN**

Quito - Ecuador

---

**NORMA TÉCNICA ECUATORIANA**

**NTE INEN 9:2012  
Quinta revisión**

---

**LECHE CRUDA. REQUISITOS.**

**Primera Edición**

**RAW MILK. REQUIREMENTS.**

**First Edition**

---

DESCRIPTORES: Tecnología de los alimentos, leche y productos lácteos, leche cruda, requisitos  
AL 03.01-401  
CCLC: 637.133.4  
CIIU: 3112  
ICS: 67.100.01

CDU: 637.133.4  
ICB: 67.100.01

**INEN**

CIU: 3112  
AL. 03.01-401

Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria	LECHE CRUDA REQUISITOS	NTE INEN 9:2012 Quinta revisión 2012-01
<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Casilla 17-01-7369 - Baqueríz o Moreno 88-29 y Almagro - Quito Ecuador - Prohibida la reproducción</p>		
<p style="text-align: center;"><b>1. OBJETO</b></p> <p><b>1.1</b> Esta norma establece los requisitos que debe cumplir la leche cruda de vaca, destinada al procesamiento.</p> <p style="text-align: center;"><b>2. ALCANCE</b></p> <p><b>2.1</b> Esta norma se aplica únicamente a la leche cruda de vaca. La denominación de leche cruda se aplica para la leche que no ha sufrido tratamiento térmico, salvo el de enfriamiento para su conservación, ni ha tenido modificación alguna en su composición.</p> <p style="text-align: center;"><b>3. DEFINICIONES</b></p> <p><b>3.1</b> Para efectos de esta norma se adoptan las siguientes definiciones:</p> <p><b>3.1.1</b> Leche. Producto de la secreción mamaria normal de animales bovinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños diarios, higiénicos, completos e ininterrumpidos, sin ningún tipo de adición o extracción, destinada a un tratamiento posterior previo a su consumo.</p> <p><b>3.1.2</b> Leche cruda. Leche que no ha sido sometida a ningún tipo de calentamiento, es decir su temperatura no ha superado la de la leche inmediatamente después de ser extraída de la ubre (no más de 40°C).</p> <p style="text-align: center;"><b>4. DISPOSICIONES GENERALES</b></p> <p><b>4.1</b> La leche cruda se considera no apta para consumo humano cuando:</p> <p><b>4.1.1</b> No cumple con los requisitos establecidos en el Capítulo 5 de la presente norma.</p> <p><b>4.1.2</b> Es obtenida de animales cansados, deficientemente alimentados, desnutridos, enfermos o manipulados por personas afectadas de enfermedades infectocontagiosas.</p> <p><b>4.1.3</b> Contiene sustancias extrañas ajenas a la naturaleza del producto como: conservantes (formaldehído, peróxido de hidrógeno, hipocloritos, cloraminas, dicromato de potasio, lactoperoxidasa adicionada), adulterantes (harinas, almidones, sacarosa, cloruros, suero de leche, grasa vegetal), neutralizantes, colorantes y residuos de medicamentos veterinarios, en cantidades que superen los límites indicados en la tabla 1.</p> <p><b>4.1.4</b> Contiene calostro, sangre, o ha sido obtenida en el período comprendido entre los 12 días anteriores y los 7 días posteriores al parto.</p> <p><b>4.1.5</b> Contiene gérmenes patógenos o un conteo microbiano superior al máximo permitido por la presente norma, toxinas microbianas o residuos de pesticidas, y metales pesados en cantidades superiores al máximo permitido.</p> <p><b>4.2</b> La leche cruda después del ordeño debe ser enfriada, almacenada y transportada hasta los centros de acopio y/o plantas procesadoras en recipientes apropiados autorizados por la autoridad sanitaria competente.</p> <p><b>4.3</b> En los centros de acopio la leche cruda debe ser filtrada y enfriada, a una temperatura inferior a 10°C con agitación constante.</p> <p><b>4.4</b> Los límites máximos de pesticidas serán los que determine el Codex Alimentarius CAC/MRL 1 (Continúa)</p> <p>DESCRIPTORES: Tecnología de los alimentos, leche y productos lácteos, leche cruda, requisitos.</p>		

4.5 Los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios para la leche serán los que determine el Codex Alimentario CAC/MRL 2.

## 5. REQUISITOS

### 5.1 Requisitos específicos

#### 5.1.1 Requisitos organolépticos (ver nota 1)

5.1.1.1 Color. Debe ser blanco opalescente o ligeramente amarillento.

5.1.1.2 Olor. Debe ser suave, lácteo característico, libre de olores extraños.

5.1.1.3 Aspecto. Debe ser homogéneo, libre de materias extrañas.

#### 5.1.2 Requisitos físicos y químicos

5.1.2.1 La leche cruda, debe cumplir con los requisitos físico-químicos que se indican en la tabla 1.

TABLA 1. Requisitos físico-químicos de la leche cruda.

REQUISITOS	UNIDAD	MIN.	MAX.	MÉTODO DE ENSAYO
Densidad relativa: a 15 °C A 20 °C	-	1,029 1,033	1,033 1,032	NTE INEN 11
Materia grasa	% (fracción de masa) <sup>1)</sup>	3,0	-	NTE INEN 12
Acidez titulable como ácido láctico	% (fracción de masa)	0,13	0,17	NTE INEN 13
Sólidos totales	% (fracción de masa)	11,2	-	NTE INEN 14
Sólidos no grasos	% (fracción de masa)	8,2	-	-
Cenizas	% (fracción de masa)	0,65	-	NTE INEN 14
Punto de congelación (punto crioscópico) **	°C °H	-0,536 -0,555	-0,512 -0,530	NTE INEN 15
Proteínas	% (fracción de masa)	2,9	-	NTE INEN 16
Ensayo de reductasa (azul de metileno)***	h	3	-	NTE INEN 019
Reacción de estabilidad proteica (prueba de alcohol)	Para leche destinada a pasteurización: No se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 68 % en peso o 75 % en volumen; y para la leche destinada a ultra-pasteurización: No se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 71 % en peso o 78 % en volumen			NTE INEN 1500
Presencia de conservantes <sup>1)</sup>	-	Negativa	-	NTE INEN 1500
Presencia de neutralizantes <sup>2)</sup>	-	Negativa	-	NTE INEN 1500
Presencia de acidulantes <sup>3)</sup>	-	Negativa	-	NTE INEN 1500
Grasas vegetales	-	Negativa	-	NTE INEN 1500
Suero de Leche	-	Negativa	-	NTE INEN 2401
Prueba de Brucelosis	-	Negativa	-	Prueba de anillo PAL (Ring Test)
RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS <sup>4)</sup>	ug/l	—	MRL establecidos en el CODEX Alimentarius CAC/MRL 2	Los establecidos en el compendio de métodos de análisis identificados como idóneos para respaldar los LMR del codex <sup>5)</sup>

\* Diferencia entre el contenido de sólidos totales y el contenido de grasas.

\*\* °C= °H - 1, donde °H= 0,5556

\*\*\* Aplicado a la leche cruda antes de ser sometida a enfriamiento

1) Conservantes: formaldehído, peróxido de hidrógeno, dioxo, hipocloritos, cloraminas, lactoperoxidasa adicionada y dióxido de cloro.

2) Neutralizantes: óxido, carbonatos, hidróxido de sodio, jabones.

3) Acidulantes: ácidos y sus sales, soluciones azucaradas o soluciones salinas, colorantes, leche en polvo, suero de leche, grasas vegetales.

4) Fracción de masa de 8, 14%. Esta cantidad se expresa frecuentemente en por ciento, %. La notación "% (m/m)" no deberá usarse.

5) Se refiere a aquellos medicamentos veterinarios aprobados para uso en ganado de producción lechera.

6) Establecidos por el comité del Codex sobre residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos

NOTA 1. Se podrán presentar variaciones en estas características, en función de la raza, estación climática o alimentación, pero estas no deben afectar significativamente las características sensoriales indicadas.



5.1.3 Contaminantes. El límite máximo para contaminantes es el que se indica en la tabla 2.

TABLA 2. Límites máximo para contaminantes

Requisito	Límite máximo (LM)	Método de ensayo
Pomo, mg/kg	0,02	ISO/TS 6733
Aflatoxina M1, µg/kg	0,5	ISO 14674

5.1.4 Requisitos microbiológicos. La leche cruda debe cumplir con los requisitos especificados en la tabla 3.

TABLA 3. Requisitos microbiológicos de la leche cruda tomada en hato

Requisito	Límite máximo	Método de ensayo
Recuento de microorganismos aerobios mesófilos REP, UFC/cm <sup>3</sup>	$1,5 \times 10^4$	NTE INEN 1529-5
Recuento de células somáticas/cm <sup>3</sup>	$7,0 \times 10^4$	AOAC – 978.26

5.2 Requisitos complementarios. El almacenamiento, envasado y transporte de la leche cruda debe realizarse de acuerdo a lo que señala el Reglamento de leche y productos lácteos del Ministerio de Salud Pública.

## 6. INSPECCIÓN


6.1 Muestreo. El muestreo debe realizarse de acuerdo con la NTE INEN 4.

6.2 Aceptación o rechazo. Se acepta el producto si cumple con los requisitos indicados en esta norma, caso contrario se rechaza.



Anexo 3.

**Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 11. Primera Revisión. LECHE.  
DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA.**

ODU: 351.773.137.12		AL 03.01-301
Norma Técnica Ecuatoriana	LECHE. DETERMINACION DE LA DENSIDAD RELATIVA	INEN 11 Primera Revisión
<p style="text-align: center;"><b>1. OBJETO</b></p> <p>1.1 Esta norma establece los métodos para determinar la densidad relativa de la leche,</p>		
<p style="text-align: center;"><b>2. ALCANCE</b></p> <p>2.1 Esta norma se aplica a cualquier tipo de leche que se presente en el estado líquido,</p> <p>2.2 En esta norma se describen el método del lactodensímetro y el método del picnómetro.</p>		
<p style="text-align: center;"><b>3. TERMINOLOGIA</b></p> <p>3.1 <b>Densidad relativa.</b> Es la relación entre la densidad de una sustancia y la densidad del agua destilada, consideradas ambas a una temperatura determinada.</p>		
<p style="text-align: center;"><b>4. DISPOSICIONES GENERALES</b></p> <p>4.1 Para determinar la densidad relativa de la leche, podrá usarse cualquiera de los dos métodos descritos en esta norma. En casos de discrepancia o de litigio, deberá usarse el método del picnómetro.</p> <p>4.2 El lactodensímetro deberá calibrarse periódicamente contra soluciones patrón de densidad conocida.</p>		
<p style="text-align: center;"><b>5. METODO DEL LACTODENSIMETRO</b></p> <p>5.1 <b>Fundamento</b></p> <p>5.1.1 El método se basa en el uso de un densímetro graduado adecuadamente.</p> <p>5.2 <b>Instrumental</b></p> <p>5.2.1 <b>Lactodensímetro.</b> con temperatura de referencia 20°C y provisto de graduaciones de 0,001 u otras que permitan una aproximación mayor a la misma temperatura.</p> <p>5.2.2 <b>Probeta de 250 cm<sup>3</sup>.</b> de medidas que permitan libre movimiento al lactodensímetro.</p> <p>5.2.3 <b>Termómetro.</b> Graduado en grados Celsius y con divisiones no mayores de 0,5°C. El termómetro puede estar incorporado en el lactodensímetro.</p>		
<p style="text-align: right;">(Continúa)</p>		

**NTE INEN 11**

**5.2.4** Baño de agua, con regulador de temperatura, ajustado a una temperatura comprendida entre 15°C y 25°C (preferiblemente 20°C), con precisión de  $\pm 0,5^\circ\text{C}$ .

**5.3 Preparación de la muestra**

**5.3.1** Llevar la muestra a una temperatura aproximadamente igual a la del baño de agua (ver 5.2.4) y mezclarla mediante agitación suave hasta que esté homogénea, cuidando que no haya separación de grasa por efecto de la agitación.

**5.3.2** Si se forman grumos de crema y éstos no se dispersan, calentar la muestra en baño María hasta 35°-40°C, mezclando cuidadosamente e incorporando cualquier partícula de crema adherida al recipiente, y enfriar rápidamente hasta 18° - 20°C. Si quedan partículas blancas o grumos de grasa adheridos a las paredes del recipiente, la determinación no dará resultados exactos.

**5.4 Procedimiento**

**5.4.1** Manteniendo inclinada la probeta para evitar la formación de espuma, verter la muestra hasta llenar la probeta completamente.

**5.4.2** Introducir la probeta en el baño de agua, en tal forma que el nivel de agua quede de 1 cm a 3 cm por debajo del borde de la probeta.

**5.4.3** Luego de estabilizar la temperatura de la leche con una variación máxima de  $\pm 0,5^\circ\text{C}$ , determinar su valor mediante el termómetro y registrarlo como t. Sumergir suavemente el lactodensímetro hasta que esté cerca de su posición de equilibrio e imprimirle un ligero movimiento de rotación para impedir que se adhiera a las paredes de la probeta. Durante la inmersión debe desbordarse la leche de tal manera que la zona de lectura del lactodensímetro quede por encima del plano superior de la probeta.

**5.4.4** Esperar que el lactodensímetro quede en completo reposo y, sin rozar las paredes de la probeta, leer la medida de la graduación correspondiente al menisco superior y registrar su valor como d (ver nota 1).

**5.5 Cálculos**

**5.5.1** La densidad relativa a [20/20°C] de la leche, se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$d_{20} = d + 0,0002 (t - 20)$$

Siendo:


- $d_{20}$  = densidad relativa a 20/20°C;
- $d$  = densidad aparente a t°C (ver 5.4.4);
- $t$  = temperatura de la muestra durante la determinación, en °C, (ver 5.4.3).

NOTA 1. Al realizar la lectura debe tenerse en cuenta que algunos lactodensímetros indican sólo las milésimas de la densidad relativa (supuesta mayor de 1,0); en tales casos, un valor, díjase por ejemplo, 27, de la escala debe interpretarse como 1,027.

(Continúa)

## Anexo 4.

## Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 12. LECHE. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GRASA.

CDU: 351.773.137.127		AL 03.01-302
Norma Técnica Ecuatoriana	LECHE. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GRASA	INEN 12 1973-06
<p style="text-align: center;"><b>1. OBJETO</b></p> <p>1.1 Esta norma tiene por objeto establecer los métodos para determinar el contenido de grasa de la leche.</p> <p style="text-align: center;"><b>2. ALCANCE</b></p> <p>2.1 Esta norma se aplica a los siguientes tipos de leche:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a) Leche fresca.</li> <li>b) Leche homogeneizada (pasteurizada o esterilizada).</li> <li>c) Leche descremada o semidescremada.</li> </ul> <p>2.2 En esta norma se describen el método de Gerber y el método de Röse-Gottlieb.</p> <p style="text-align: center;"><b>3. TERMINOLOGIA</b></p> <p>3.1 Contenido de grasa de la leche. Es la cantidad, expresada en porcentaje de masa, de sustancias, principalmente grasas, extraídas de la leche mediante procedimientos normalizados.</p> <p>3.2 Otros términos relacionados con esta norma están definidos en la norma INEN 3.</p> <p style="text-align: center;"><b>4. DISPOSICIONES GENERALES</b></p> <p>4.1 Para determinar el contenido de grasa en los productos considerados por esta norma, podrá usarse cualquiera de los dos métodos descritos en esta norma. En casos de discrepancia o litigio deberá usarse el método de Röse-Gottlieb.</p> <p>4.2 Las pipetas aforadas y los butirómetros, usados para aplicar el método de Gerber, deberán estar debidamente estandarizados e inspeccionados</p> <p style="text-align: right;">(Continúa)</p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Casilla 17-01-3009 - Baños de San Marcos 83-29 - Baños de San Marcos - Quito-Ecuador - Prohibida la reproducción

## 5. METODO DE GERBER

### 5.1 Resumen

5.1.1 Separar, mediante acidificación y centrifugación, la materia grasa contenida en el producto analizado, y determinar el contenido de grasa mediante lectura directa en un butirómetro estandarizado.

### 5.2 Instrumental

5.2.1 Pipeta aforada de 10 cm<sup>3</sup>, de seguridad, para ácido sulfúrico,

5.2.2 Pipeta aforada de 1 cm<sup>3</sup>, para alcohol amílico.

5.2.3 Pipeta aforada de 10,94 cm<sup>3</sup>, para medir la muestra.

5.2.4 Butirómetros Gerber, para leche y para leche descremada, (ver A.1).

5.2.5 Centrifuga, con velocidad de 1100 ± 100 r/min.

5.2.6 Baño de agua, con regulador de temperatura, ajustado a 65° ± 2° C.

5.2.7 Baño María.

### 5.3 Reactivos

5.3.1 Ácido sulfúrico, concentrado para análisis, con densidad 1,815 ± 0,003 g/cm<sup>3</sup> a 20°C.

5.3.2 Alcohol amílico, compuesto principalmente de 3-metil-butanol y 2-metil-butanol y prácticamente exento de alcoholes amílicos secundarios o terciarios y furfural; deberá tener una densidad de 0,811 ± 0,002 g/cm<sup>3</sup> a 20°C.

5.3.3 Agua destilada.

### 5.4 Preparación de la muestra

5.4.1 Llevar la muestra a una temperatura de aproximadamente 20°C, y mezclarla mediante agitación suave hasta que esté homogénea, cuidando que no haya separación de grasa por efecto de la agitación.

5.4.2 Si se forman grumos de crema y éstos no se dispersan, calentar la muestra en baño María hasta 35°-40°C, mezclando cuidadosamente e incorporando cualquier partícula de crema adherida al recipiente, y enfriar rápidamente hasta 18°-20°C. Si quedan partículas blancas o grumos de grasa adheridos a las paredes del recipiente, la determinación no dará resultados exactos.

### 5.5 Procedimiento

5.5.1 Para la determinación del contenido de grasa en la leche fresca u homogenizada (pasteurizada o esterilizada) debe usarse el butirómetro Gerber para leche, mientras que para la leche descremada debe usarse el butirómetro Gerber para leche descremada.

5.5.2 Verter 10 cm<sup>3</sup>, exactamente medidos, de ácido sulfúrico en el butirómetro respectivo, cuidando de no humedecer con ácido el cuello del butirómetro.

(Continúa)

5.5.3 Invertir lentamente, tres o cuatro veces, la botella que contiene la muestra preparada, y pipetear  $10,94 \text{ cm}^3$  de leche, de tal manera que el borde inferior del menisco coincida con la línea de calibración de la pipeta después de limpiar con papel absorbente la parte exterior de su punta de descarga. Luego, sosteniendo la pipeta con su punta pegada al borde inferior del cuello del butírómetro, descargar cuidadosamente la leche en el mismo hasta que el menisco se detenga, dejar transcurrir 3 segundos y frotar la punta de la pipeta contra la base del cuello del butírómetro.

5.5.4 Verter  $1 \text{ cm}^3$ , exactamente medido, de alcohol amílico en el butírómetro, cuidando de no humedecer con el alcohol el cuello del butírómetro. El alcohol amílico debe añadirse siempre después de la leche.

5.5.5 Tapar herméticamente el cuello del butírómetro y agitar en una vitrina de protección, invirtiendo lentamente al butírómetro dos o tres veces durante la operación, hasta que no aparezcan partículas blancas.

5.5.6 Inmediatamente después de la agitación, centrifugar el butírómetro con su tapa colocada hacia afuera. Si no hay un número suficiente de butírómetros para llenar completamente la centrífuga, colocarlos simétricamente, equilibrándolos con uno que contenga igual volumen de agua en caso de ser necesario. Una vez que la centrífuga alcanza la velocidad necesaria, continuar la centrifugación durante un tiempo no menor de 4 min ni mayor de 5 min, a tal velocidad.

5.5.7 Retirar el butírómetro de la centrífuga y colocarlo, con la tapa hacia abajo, en el baño de agua a  $65^\circ \pm 2^\circ\text{C}$  durante un tiempo no menor de 4 min ni mayor de 10 min, manteniendo la columna de grasa completamente sumergida en el agua.

5.5.8 Luego, dependiendo del tipo de leche analizada, proceder de acuerdo con 5.5.9, 5.5.10 ó 5.5.11.

5.5.9 *Leche fresca.* Antes de proceder a la lectura, colocar el nivel de separación entre el ácido y la columna de grasa sobre la marca de una graduación principal de la escala; esto se consigue presionando o aflojando adecuadamente la tapa del butírómetro. Leer las medidas correspondientes a la parte inferior del menisco de grasa y al nivel de separación entre el ácido y la columna de grasa; la diferencia entre las dos lecturas da el contenido de grasa de la leche. Al realizar las lecturas, debe mantenerse la escala en posición vertical y el punto de lectura al mismo nivel de los ojos. La lectura del menisco debe aproximarse a 0,05%, (ver 5.5.12).

5.5.10 *Leche homogenizada (pasteurizada o esterilizada).* Realizar una primera lectura de acuerdo con lo indicado en 5.5.9. Luego, ajustar la tapa si es necesario e, inmediatamente, repetir por segunda vez la centrifugación, el calentamiento a  $65^\circ \pm 2^\circ\text{C}$  y la lectura. Si la segunda lectura difiere de la primera, repetir por tercera vez la centrifugación, el calentamiento a  $65^\circ \pm 2^\circ\text{C}$  y la lectura; la medida válida corresponde a la segunda o tercera lectura, según el caso, (ver 5.5.12).

5.5.11 *Leche descremada.* Repetir por segunda vez la centrifugación y el calentamiento a  $65^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ , y realizar la lectura de acuerdo con lo indicado en 5.5.9, (ver 5.5.12).

5.5.12 *Instrucciones adicionales.* Si existe formación de una capa esponjosa o no definida en la base de la columna de grasa, debe repetirse el ensayo teniendo cuidado de añadir el volumen correcto de alcohol amílico y de disolver completamente cualquier partícula blanca de la leche. Si la columna de grasa presenta una coloración muy oscura que dificulta la lectura, o hay carbonización en la interfase, debe repetirse el ensayo luego de verificar la densidad del ácido sulfúrico. El butírómetro debe lavarse perfectamente al final de la operación (ver A.1).

(Continúa)

Anexo 5.

**Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 13. Primera Revisión. LECHE.  
DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ TITULABLE.**

CDE: 637.127.6	<b>INEN</b>	AL 03.01-303
Norma Técnica Ecuatoriana	LECHE. DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ TITULABLE	INEN 13 Primera Revisión
<p style="text-align: center;"><b>1. OBJETO</b></p> <p>1.1 Esta norma establece el método para determinar la acidez titulable de la leche.</p> <p style="text-align: center;"><b>2. ALCANCE</b></p> <p>2.1 Esta norma se aplica a los siguientes tipos de leche:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a) Leche fresca.</li> <li>b) Leche homogenizada (pasteurizada o esterilizada).</li> <li>c) Leche descremada o semidescremada.</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>3. TERMINOLOGIA</b></p> <p>3.1 <b>Acidez titulable de la leche.</b> Es la acidez de la leche, expresada convencionalmente como contenido de ácido láctico, y determinada mediante procedimientos normalizados.</p> <p>3.2 Otros términos relacionados con esta norma se definen en la Norma INEN 3.</p> <p style="text-align: center;"><b>4. RESUMEN</b></p> <p>4.1 Se titula la acidez con una solución estandarizada de hidróxido de sodio, usando fenolftaleína como indicador.</p> <p style="text-align: center;"><b>5. INSTRUMENTAL</b></p> <p>5.1 <b>Balanza analítica.</b> Sensible al 0,1 mg.</p> <p>5.2 <b>Matraz Erlenmeyer</b> de 100 cm<sup>3</sup>.</p> <p>5.3 <b>Matraz aforado</b> de 500 cm<sup>3</sup>.</p> <p>5.4 <b>Bureta</b> de 25 cm<sup>3</sup>, con divisiones de 0,05 cm<sup>3</sup> o de 0,1 cm<sup>3</sup>.</p> <p>5.5 <b>Estufa</b>, con regulador de temperatura, ajustada a 103° ± 2°C.</p> <p>5.6 <b>Desecador</b>, con cloruro de calcio anhidro u otro deshidratante adecuado</p> <p style="text-align: right;">(Continúa)</p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Casilla 17-01-3999 - Baquería Moreno E429 y Almagro - Quito-Ecuador - Prohibida la reproducción



**6. REACTIVOS**

- 6.1** Solución 0,1 N de hidróxido de sodio, debidamente estandarizada.
- 6.2** Solución indicadora de fenolftaleína. Disolver 0,5 g de fenolftaleína en 100 cm<sup>3</sup> de alcohol etílico de 95 - 96 % (V/V).
- 6.3** Agua destilada, exenta de CO<sub>2</sub> y fría.

**7. PREPARACION DE LA MUESTRA**

- 7.1** Llevar la muestra a una temperatura aproximada de 20°C y mezclarla mediante agitación suave hasta que esté homogénea, cuidando que no haya separación de grasa por efecto de la agitación.
- 7.2** Si se forman grumos de crema y éstos no se dispersan, calentar la muestra en baño María hasta 35° - 40°C, mezclando cuidadosamente e incorporando cualquier partícula de crema adherida al recipiente; enfriar rápidamente hasta 18° - 20°C. Si quedan partículas blancas o grumos de grasa adheridos a las paredes del recipiente, la determinación no dará resultados exactos.

**8. PROCEDIMIENTO**

- 8.1** La determinación realizar por duplicado sobre la misma muestra preparada.
- 8.2** Lavar cuidadosamente y secar el matraz Erlenmeyer en la estufa a 103° ± 2°C durante 30 min. Dejar enfriar en el desecador y pesar con aproximación al 0,1 mg.
- 8.3** Invertir, lentamente, tres o cuatro veces, la botella que contiene la muestra preparada; inmediatamente, transferir al matraz Erlenmeyer y pesar con aproximación al 0,1 mg, aproximadamente 20 g de muestra.
- 8.4** Diluir el contenido del matraz con un volumen dos veces mayor de agua destilada, y agregar 2 cm<sup>3</sup> de solución indicadora de fenolftaleína.
- 8.5** Agregar, lentamente y con agitación, la solución 0,1 N de hidróxido de sodio, justamente hasta conseguir un color rosado persistente (fácilmente perceptible si se compara con una muestra de leche diluida de acuerdo con lo indicado en 8.4) que desaparece lentamente.
- 8.6** Continuar agregando la solución hasta que el color rosado persista durante 30 s.
- 8.7** Leer en la bureta el volumen de solución empleada, con aproximación a 0,05 cm<sup>3</sup>.

(Continúa)

NTE INEN 13

## 8. CALCULOS

9.1 La acidez titulable de la leche se calcula mediante la ecuación siguiente (ver nota 1).

$$A = 0,090 \frac{V \times N}{m_1 - m} \times 100$$

Siendo:

A = acidez titulable de la leche, en porcentaje en masa de ácido láctico (ver Anexo A).

V = volumen de la solución de hidróxido de sodio empleado en la titulación, en cm<sup>3</sup>.

N = normalidad de la solución de hidróxido de sodio.

m = masa del matraz Erlenmeyer vacío, en g.

m<sub>1</sub> = masa del matraz Erlenmeyer con la leche, en g.

9.2 El porcentaje de acidez titulable debe calcularse con aproximación a milésimas.

## 10. ERRORES DE MÉTODO

10.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder de 0,005%, en caso contrario, debe repetirse la determinación.

## 11. INFORME DE RESULTADOS

11.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación, aproximada a centésimas.

11.2 En el informe de resultados, debe indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

11.3 Deben incluirse todos los detalles necesarios para la completa identificación de la muestra.

NOTA 1. El factor 0,090 de la ecuación de cálculo es exacto

(Continúa)



NTE INEN 13

**ANEXO A****EXPRESIÓN DE LA ACIDEZ EN OTRAS UNIDADES**

A.1 Si se desea calcular la acidez titulable de la leche en gramos de ácido láctico por cada 1 000 cm<sup>3</sup> de leche (g/1 000 cm<sup>3</sup>) deberá aplicarse la siguiente ecuación:

$$\text{Acidez en g/1 000 cm}^3 = 10 \cdot A \cdot d$$

Donde:

d = densidad relativa de la leche.


A = acidez titulable de la leche, en porcentaje en masa de ácido láctico.

A<sub>2</sub> = si se desea calcular la acidez titulable de la leche en grados Dornic (0,1 g/1 000 cm<sup>3</sup>), debe dividirse para 10 la acidez titulable expresada en g/1 000 cm<sup>3</sup> (ver A.1).

(Continúa)

## Anexo 6.

**Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 14. Primera Revisión. LECHE.  
DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES Y CENIZAS.**

CDU: 637.127.6		AL 03.01-304
Norma Técnica Ecuatoriana	<b>LECHE.</b> <b>DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES Y CENIZAS</b>	<b>INEN 14</b> <b>Primera Revisión</b>
<p align="center"><b>1. OBJETO</b></p> <p>1.1 Esta norma establece el método para determinar el contenido de sólidos totales y cenizas de la leche.</p> <p align="center"><b>2. ALCANCE</b></p> <p>2.1 Esta norma se aplica a los siguientes tipos de leche:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a) Leche fresca.</li> <li>b) Leche homogenizada (pasteurizada o esterilizada).</li> <li>c) Leche descremada o semidescremada.</li> </ul> <p align="center"><b>3. TERMINOLOGIA</b></p> <p>3.1 <b>Sólidos totales de la leche.</b> Es el producto resultante de la desecación de la leche mediante procedimientos normales.</p> <p>3.1 <b>Cenizas de la leche.</b> Es el producto resultante de la incineración de los sólidos totales de la leche mediante procedimientos normalizados.</p> <p>3.2 Otros términos relacionados con esta norma se definen en la Norma INEN 3.</p> <p align="center"><b>4. RESUMEN</b></p> <p>4.1 Se deseca, mediante evaporación, una cantidad determinada de leche y se pesa el residuo, que corresponde a los sólidos totales de la leche.</p> <p>4.2 Se incineran a <math>530^{\circ} \pm 20^{\circ}\text{C}</math> los sólidos totales de la leche, y se pesa el residuo que corresponde a las cenizas de la leche.</p> <p align="center"><b>5. INSTRUMENTAL</b></p> <p>5.1 Balanza analítica. Sensible al 0,1 mg.</p> <p>5.2 Cápsula de platino de otro material inalterable a las condiciones del ensayo, de fondo plano, con diámetro de 50 - 60 mm y altura de 20 - 25 mm.</p> <p>5.3 Baño María</p> <p align="right">(Continúa)</p>		

NTE INEN 14

5.4 Estufa, con ventilación y regulador de temperatura, ajustada a  $103^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ .

5.5 Desecador, con cloruro de calcio anhidro u otro deshidratante adecuado.

5.6 Mufia, con regulador de temperatura, ajustada a  $530^{\circ} \pm 20^{\circ}\text{C}$ .

#### 6. PREPARACION DE LA MUESTRA

6.1 Llevar la muestra a una temperatura aproximada de  $20^{\circ}\text{C}$  y mezclarla mediante agitación suave hasta que esté homogénea, cuidando que no haya separación de grasa por efecto de la agitación.

6.2 Si se forman grumos de crema y éstos no se dispersan, calentar la muestra en baño María hasta  $35^{\circ} - 40^{\circ}\text{C}$ , mezclando cuidadosamente e incorporando cualquier partícula de crema adherida al recipiente; enfriarla rápidamente hasta  $18^{\circ} - 20^{\circ}\text{C}$ . Si quedan partículas blancas o grumos de grasa adheridos a las paredes del recipiente, la determinación no dará resultados exactos.

#### 7. PROCEDIMIENTO

7.1 La determinación realizar por duplicado sobre la misma muestra preparada.

7.2 Lavar cuidadosamente y secar la cápsula en la estufa ajustada a  $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 30 min. Dejar enfriar en el desecador y pesar con aproximación al 0,1 mg.

7.3 Invertir lentamente, tres o cuatro veces, la botella que contiene la muestra preparada; inmediatamente, transferir a la cápsula y pesar con aproximación al 0,1 mg aproximadamente 5 g de muestra.

7.4 Colocar la cápsula en el baño María a ebullición durante 30 min, cuidando que su base quede en contacto directo con el vapor.

7.5 Transferir la capsula a la estufa ajustada a  $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  y calentar durante 3 h.

7.6 Dejar enfriar la cápsula (con los sólidos totales) en el desecador y pesar con aproximación al 0,1 mg. Repetir el calentamiento por periodos de 30 min, enfriando y pesando hasta que no haya disminución en la masa, (ver 7.10).

7.7 Colocar la cápsula (con los sólidos totales) cerca de la puerta de la mufia abierta y mantenerla allí durante unos pocos minutos para evitar pérdidas por proyección de material que podrían ocurrir si la cápsula se introduce directamente en la mufia.

7.8 Introducir la cápsula en la mufia a  $530^{\circ} \pm 20^{\circ}\text{C}$  hasta obtener cenizas libres de partículas de carbón (esto se obtiene al cabo de 2 ó 3 h).

(Continúa)

**NTE INEN 14**

7.9 Sacar la cápsula (con las cenizas), dejar enfriar en el desecador y pesar con aproximación al 0,1 mg. Repetir la incineración por periodos de 30 min, enfriando y pesando hasta que no haya disminución en la masa.

7.10 Cuando sea necesario determinar únicamente las cenizas y no el contenido de sólidos totales, deben omitirse los pasos indicados en 7.6.

**8. CALCULOS**

8.1 El contenido de sólidos totales de la leche se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$S = \frac{m_3 - m}{m_2 - m} \times 100$$

Siendo:

S = contenido de sólidos totales, en porcentaje de masa;

m = masa de la cápsula vacía, en g;

m<sub>2</sub> = masa de la cápsula con la leche (antes de la desecación), en g;

m<sub>3</sub> = masa de la cápsula con los sólidos totales (después de la desecación), en g.

8.2 Cuando se determine únicamente el contenido de sólidos lácteos no grasos, deberá restarse del porcentaje de sólidos totales el porcentaje del contenido de grasa.

8.3 La cantidad de cenizas de la leche se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$C = \frac{m_3 - m}{m_2 - m} \times 100$$

Siendo:

C = cantidad de cenizas de la leche, en porcentaje de masa;

m = masa de la cápsula vacía, en g;

m<sub>2</sub> = masa de la cápsula con la leche (antes de la desecación), en g

m<sub>3</sub> = masa de la cápsula con las cenizas (después de la incineración), en g.

**9. ERRORES DE MÉTODO**

9.1 Para los sólidos totales, la diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder de 0,05%; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

9.2 Para las cenizas, la diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder de 0,01%, en caso contrario, debe repetirse la determinación (ver 7.10).

**10. INFORME DE RESULTADOS**

10.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de cada una de las dos determinaciones.

10.2 En el informe de resultados, debe indicarse el método usado y el resultado obtenido para cada caso. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el o los resultados.

10.3 Deben incluirse todos los detalles necesarios para la completa identificación de la muestra.

(Continúa)

NTE INEN 14

**APENDICE Y****MÉTODO PARA CALCULAR EL CONTENIDO DE SÓLIDOS  
TOTALES EN LA LECHE A PARTIR DE SU DENSIDAD  
Y DE SU CONTENIDO DE GRASA**

**Y.1** Cuando se conoce el contenido de grasa y la densidad de la leche, el contenido de sólidos totales puede calcularse directamente mediante la siguiente ecuación:

$$S = 25D(d_{20} - 1) + 1,22G + 0,72$$

Siendo:

- S = contenido de sólidos totales, en porcentaje de masa.
- $d_{20}$  = densidad relativa a 20°/20°C.
- G = contenido de grasa, en porcentaje de masa.

**Y.2** Este método de cálculo da resultados comparables con los obtenidos al aplicar el método de ensayo descrito en esta norma; sin embargo, presenta la desventaja de no permitir el cálculo del contenido de cenizas.

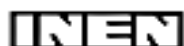
*(Continúa)*

←

1983-033

Anexo 7.

**Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1500:2011. Primera Revisión. LECHE.  
MÉTODOS DE ENSAYO CUALITATIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA  
CALIDAD Primera Edición.**



**INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN**

Quito - Ecuador

---

**NORMA TÉCNICA ECUATORIANA**

**NTE INEN 1500:2011  
Primera revisión**

---

**LECHE. MÉTODOS DE ENSAYO CUALITATIVOS PARA LA  
DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD.**

**Primera Edición**

MILK. METHODS OF QUALITATIVE TEST FOR QUALITY DETERMINATION.

First Edition

---

DESCRIPTORES: Alimentos, productos lácteos, leche, métodos de ensayo cualitativos para la determinación de la calidad.  
AL 03.01-333  
CCLC 637.133.4  
CIIU: 3112  
ICS: 67.100.10

COU: 637.133.4  
ICS: 67.100.10

**INEN**

CIIU: 3112  
AL 03.01-333

Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria	LECHE. MÉTODOS DE ENSAYO CUALITATIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD	NTE INEN 1500:2011 Primera revisión 2011-06
<p style="text-align: center;"><b>1. OBJETO</b></p> <p><b>1.1</b> Esta norma establece los métodos de ensayo cualitativos para la determinación de la calidad de la leche.</p> <p style="text-align: center;"><b>2. ACIDEZ</b></p> <p><b>2.1 Determinación de estabilidad proteica.</b></p> <p><b>2.1.1 Definición.</b> La estabilidad proteica es la propiedad que tiene la leche de no producir precipitación o coagulación de la proteína en presencia de una solución de alcohol etílico o de una solución alcohólica de alizarina, ó, por acción del calor, debido a la acidificación.</p> <p><b>2.2 Método de la prueba de la leche con alcohol</b></p> <p><b>2.2.1 Fundamento.</b> El método consiste en añadir a la leche una cantidad de alcohol etílico neutro; si ésta ha sufrido acidificación o es anormal por contener calostro o provenir de vacas afectadas con mastitis, se forman coágulos y el ensayo se reporta como positivo.</p> <p><b>2.2.2 Equipo</b></p> <p><b>2.2.2.1</b> Tubos de ensayo con capacidad para 20 cm<sup>3</sup></p> <p><b>2.2.2.2</b> Pipetas graduadas de 5 cm<sup>3</sup></p> <p><b>2.2.2.3</b> Gradilla</p> <p><b>2.2.3 Reactivos.</b> Solución acuosa de alcohol etílico neutro de 68 % en peso o 75 % en volumen</p> <p><b>2.2.4 Procedimiento.</b> Transferir 5 cm<sup>3</sup> de muestra a un tubo de ensayo y añadir 5 cm<sup>3</sup> de la solución acuosa de alcohol etílico. Tapar el tubo y agitar invirtiéndolo dos o tres veces, observar su aspecto.</p> <p><b>2.2.5 Expresión de resultados.</b> Si no existe precipitación o formación de coágulos de la leche, reportar como negativa la prueba del alcohol y se dice que esta presenta estabilidad proteica.</p> <p><b>2.3 Método de la prueba de la alizarina</b></p> <p><b>2.3.1 Fundamento.</b> El método consiste en añadir a la leche una cantidad de solución alcohólica de alizarina; si ésta ha sufrido acidificación se forman grumos gruesos y una coloración amarilla. Si no hay formación de grumos y se produce una coloración lila, indica la presencia de sustancias neutralizantes (leche alcalina).</p> <p><b>2.3.2 Equipo</b></p> <p><b>2.3.2.1</b> Tubos de ensayo con capacidad de 20 cm<sup>3</sup></p> <p style="text-align: right;">(Continúa)</p> <p>DESCRIPTORES: Alimentos, productos lácteos, leche, métodos de ensayo cualitativos para la determinación de la calidad.</p>		

**2.3.2.2 Pipetas graduadas de 5 cm<sup>3</sup>****2.3.2.3 Gradilla****2.3.3 Reactivos**

**2.3.3.1 Alizarol.** Solución alcohólica de alizarina al 0,2 % m/v (en alcohol neutro al 75 % en volumen).

**2.3.4 Procedimiento.** Mezclar volúmenes iguales de leche y alizarol, agitar y observar el color y aspecto.

**2.3.5 Expresión de resultados**

**2.3.5.1** Si se produce precipitación o formación de coágulos y una coloración amarilla de la leche, reportar como positiva la prueba de la alizarina y se dice que la leche posee una fuerte acidez y no presenta estabilidad proteica.

**2.3.5.2** Si no presenta formación de coágulos y a su vez, presenta una coloración lila al morado intenso, según las concentraciones agregadas, se dice que la leche posee sustancias neutralizantes.

**2.4 Prueba de ebullición**

**2.4.1 Fundamento.** El método consiste en someter una muestra de leche a ebullición; si ésta ha sufrido acidificación se observará grumos o partículas coaguladas. Esta prueba es una alternativa de la prueba de alcohol, pero consume más tiempo en el análisis y es menos sensible.

**2.4.2 Equipo**

**2.4.2.1** Tubos de ensayo con capacidad de 20 cm<sup>3</sup>

**2.4.2.2** Pipetas graduadas de 5 cm<sup>3</sup>

**2.4.2.3** Gradilla

**2.4.2.4** Pinzas para tubo

**2.4.2.5** Fuente de calor

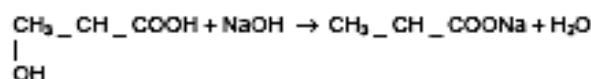
**2.4.3 Procedimiento.** Hervir agitando constantemente una muestra de 2 a 5 cm<sup>3</sup> de leche en un tubo de ensayo.

**2.4.4 Expresión de resultados.** Si se observan grumos o formación de coágulos, reportar como positiva la prueba de ebullición. La leche no ácida no coagula por aplicación de calor, lo hace la leche ácida y los calostros.

**3. NEUTRALIZANTES ALCALINOS**

**3.1 Definiciones.** Son sustancias que tienen como finalidad neutralizar el ácido láctico desarrollado por la fermentación de la lactosa a través de microorganismos específicos. Dentro de estas sustancias están: orina bovina, carbonatos, hidróxido de sodio y jabones de mala calidad.

**3.2 Fundamento.** Las diversas sustancias indicadas en 3.1.1, neutralizan el ácido láctico a medida que éste se forma, ejemplo:



Ácido Láctico + Hidróxido de sodio → Lactato de sodio + agua

(Continúa)



**3.3 Método de la prueba de la alizarina.** Ver numeral 2.3

**3.4 Método de la prueba del ácido rosólico (aurina)**

**3.4.1 Fundamento.** El ácido rosólico es un indicador de pH que tiene un rango de viraje entre 6,8 a 8,0.

**3.4.2 Equipo y materiales**

**3.4.2.1** Tubos de ensayo con capacidad de 20 cm<sup>3</sup>

**3.4.2.2** Pipetas graduadas de 5 cm<sup>3</sup>

**3.4.2.3** Gradilla

**3.4.2.4** Embudo

**3.4.2.5** Papel filtro

**3.4.3 Reactivos**

**3.4.3.1** Alcohol etílico neutralizado

**3.4.3.2** Solución de ácido rosólico en alcohol etílico neutralizado

**3.4.4 Procedimiento**

**3.4.4.1** Pipetear en un tubo de ensayo 5 cm<sup>3</sup> de leche, adicionar 5 cm<sup>3</sup> de alcohol etílico neutralizado y homogenizar por inversión lentamente.

**3.4.4.2** Filtrar la mezcla con papel filtro, recibiendo el filtrado en otro tubo de ensayo.

**3.4.4.3** Agregar al filtrado, 2 a 3 gotas de ácido rosólico.

**3.4.5 Expresión de resultados**

**3.4.5.1** En presencia de neutralizantes la reacción da una coloración rojo carmesí.

**3.4.5.2** Preparar en un tubo de ensayo un blanco, usando en vez del filtrado el mismo volumen de alcohol etílico y el mismo número de gotas de ácido rosólico. Si la coloración de la muestra es más intensa que la del tubo con el blanco, reportar el resultado como positivo.

**3.5 Identificación de orina en la leche mediante la prueba de "pupo"**

**3.5.1 Equipo**

**3.5.1.1** Tubos de ensayo con capacidad de 20 cm<sup>3</sup>

**3.5.1.2** Pipetas graduadas de 10 cm<sup>3</sup>

**3.5.1.3** Gradilla

**3.5.2 Reactivos**

**3.5.2.1** Ácido clorhídrico ( $\rho=1,19$ )

**3.5.2.2** Etanol absoluto

**3.5.2.3** Ácido nítrico ( $\rho=1,42$ )

(Continúa)

## Anexo 8.

## TRISENSOR Milk

### A Rapid Test For $\beta$ -lactams, Sulfamides and Tetracyclines Detection in MILK

Doc.Ref.: KIT035\_TRISENSOR\_Milk\_Insert\_V1.2

page 1 / 4



### A Rapid Test For $\beta$ -lactams, Sulfamides and Tetracyclines Detection in MILK

#### OPERATING INSTRUCTIONS

#### I. Introduction

Trisensor is a rapid test that allows you to simultaneously detect the presence of both  $\beta$ -lactam, Sulfamide and Tetracycline molecules in a milk sample.

#### II. Summary of the protocol

- Add 200  $\mu$ l of milk into one reagent microwell and mix to homogeneity;
- Incubate 3 min at 40°C;
- Dip one Dipstick into each microwell;
- Continue incubating for 3 min at 40°C;
- Read the colour intensities.

#### III. Reaction Mechanism

Trisensor is a competitive test involving two receptors and generic monoclonal antibodies in one single operation. The test requires the use of two components. The first component is a microwell containing predetermined amounts of both receptors and antibodies linked to gold particles. The second is a dipstick made up of a set of membranes with specific capture lines. For a valid test, the upper red control line has to be visible after the second incubation (see Figure A). The other three are the specific "test" lines placed below the control line. The line for  $\beta$ -lactam antibiotics (penicillins and cephalosporins) is located below the sulfamide line while the line relating to tetracyclines is located above it. When the reagent from the microwell is re-suspended with a milk sample, both receptors and monoclonal antibodies will bind the corresponding analytes if present during the first 3-minute incubation at 40°C. Afterwards, when the dipstick is dipped into the milk, the liquid starts running vertically on the dipstick and passes through capture zones. When the sample is free of antibiotics, a colour development occurs at the specific capture lines, indicating the absence of the targeted analytes in the milk sample. On the contrary, the presence of antibiotics in the sample will not cause the coloured signal to appear at the specific capture lines.

#### IV. Composition of kits

Trisensor Milk Kits contain everything needed to perform 96 measurements.

- 12 pots each with 1 strip of 8 reagent microwells and 8 dipsticks;
- 1 Micropipette of 200  $\mu$ l;
- ■ Positive Standard ■ containing powder to reconstitute "positive standard" raw milk of PenG, Sulfadimethoxine and Oxytetracycline. For ease of recognition, the Positive Std is stained by a dye to give it a very pale red colour;
- ■ Negative Standard ■ containing powder to reconstitute "negative standard" raw milk. The Negative Std is stained by a dye to give it a very pale green colour;
- One instruction sheet.

#### V. Additional material needed

- 1 Healsensor (40°C incubation, refer to the used Healsensor manual).
- 1 Readsensord (optional, refer to the Readsensord manual).

## VI. General Remarks

1. If instrumental reading is chosen for result interpretation, the Readsensormust be switched on before the analysis (see Readsensormanual);
2. At reception, store the kit in a dry place and at a low temperature between 2°C and 8°C. Before opening, let the plastic pots reach room temperature and avoid exposure of the product to moisture and light;
3. The standards are presented in two formats either Glass Vials or Individual Plastic Tubes. The Standard Glass vials have to be re-hydrated with 1 ml (5 X 200µl) of Pure Water and the Standard Individual Plastic tubes have to be re-hydrated each with 400µl (2 X 200µl) of pure Water. Mix vigorously (vortex) to avoid clots. The reconstituted glass vial can be stored in the freezer at -20°C. Do not freeze/thaw more than once.
4. Avoid using clotted milk with Trisensor;
5. The best temperature to perform the test is 40°C ± 3°C. Use the "Heatsensor" (or alternatively a water bath). Any other type of incubator is not appropriate to perform the Trisensor assay. (Refer to the used Heatsensor manual for setting at right temperature and timing);
6. After the second incubation, read the result within a 10-minutes time-frame. Do not attempts to interpret the result after 10 minutes;
7. When drying, the colour intensities of the lines will become sharper;
8. When a positive result is recorded, the test result should be confirmed;
9. Empty one pot before opening another pot.

## VII. Milk powder dilution

In an appropriate bottle, mix 10 g of milk powder with 90 ml of warm (40°C) and distilled water. For an optimal dilution, shake vigorously.

## VIII. Directions for use

*This procedure is described to easily run one single sample or a set of many samples. In that case, try to perform the test in cascade and avoid any delays when mixing reagent and milk but also when adding and removing dipsticks. Make sure you have the same incubation time and temperature for each sample. You shouldn't test more than 8 samples at one time and, if there are more than 3 samples, you should use a multipipette. With more than 8 samples we recommend to share series of maximum 8 samples.*

1. Choose a clean and dry place to perform the test and wash and dry your hands before starting;
2. Connect the Heatsensor (refer to the used Heatsensor manual) and wait until the temperature has stabilised at 40°C.
  - It takes about 10 minutes for the temperature to stabilize at 40°C;
3. Before opening the reagents, take the kit out of the fridge and wait until the temperature of the reagents reaches the ambient temperature. Meanwhile, read the directions for use attentively;
  - There are two main components used for the test which are: dipsticks and the freeze-dried reagents in microwells. Both are stored in the white plastic pots.
4. Determine how many samples are to be tested and write on each tube an identification number;
  - The milk sample must be liquid and homogeneous. There can be neither clots nor sedimentation phases. The ideal temperature of the milk sample is between 4 and 20°C.
5. Open one plastic pot and take out as many microwells as there are milk sample to be tested (the standard positive and negative milk included if necessary);
  - To open a pot of dipsticks, take off the safety ring by pressing it down the pot, take off the ring and get the stopper off the pot with your thumb;
  - The pot with dipsticks should always be well closed after reagents have been taken out;
  - A pot with dipsticks should be emptied before another is opened;

- Be careful, if you do not intend to use all the 8 microwells, leave the set of 8 caps on the unused ones and do not tear off the strip of the eight caps but leave it on the microwells that will not be used. Do not try to separate individual caps and put them immediately back into the white pot without damaging the dipsticks, close and make sure it is tightly sealed.
- d. Place the microwell(s) in the heating block which shows 40°C;
- 7. Place a new tip on the micropipette and transfer 200 µl of milk into each of the microwells;
- 8. **Warning:** when reagents and milk are in contact, the reaction begins. Mix quickly AND IMMEDIATELY push the START(RUN) button. The 3-minutes countdown starts;
  - During that first incubation, both receptors and monoclonal antibodies detects whether or not there are antibiotics in the milk sample. It takes 3 minutes for the reaction to be completed.
- 9. During that time, open the same pot as before, take out as many dipsticks as there are analyses in progress and close the pot. Lay the dipsticks on a clean sheet and write down the number that matches the one of the milk sample;
- 10. When the 3 minutes are over, i.e. after the sound-signal, press START (STOP)\* again to stop the ringing tone and dip the corresponding dipstick into each of the microwells laid in the incubator;
  - Make sure you put into the corresponding microwell the dipstick with the same identification number as the one of the concerned milk sample;
- 11. Start the timer for the second incubation by pressing the START (RUN)\* button. The 3-minutes countdown starts;
- 12. When the 3 minutes are over, i.e. after the sound-signal, press START (STOP)\* again to stop the ringing tone and take the dipsticks out of the microwells to lay them down on a sheet of paper;
- 13. If you are not planning to perform any other test within the day with Trisensor, put everything back into the box and store it in a fridge at a temperature ranging from 2 to 8°C.

\* (Refer to the used Heatsensor manual – For DUO Heatsensor users, steps 9 to 12 are simplified)

#### IX. Visual interpretation of results (see Figure A)

Make visual readings as follows:

- 14. First check whether the top control line is present. If it is not, regard the analysis as invalid and do not start (or continue) any interpretation.
- 15. When the top control line can be seen, interpret the three test lines as follows:
- 16. Examine one test line at a time and compare the intensity of the line colour of the test line with the intensity of the line colour of the control line. (Start with the bottom line of  $\beta$ -lactams for example);
  - o If the test line is darker in colour than the control line, the result is **NEGATIVE**, which means that, given the sensitivity of our test, the milk sample contains no antibiotics or antibiotics at the lower level than the value stated in the enclosed table A;
  - o If the test line is as distinct as or lighter in colour than the control line, the result is **POSITIVE**, which means that, given the sensitivity of our test, the milk sample contains antibiotics at or above the detection value stated in the enclosed table A.
- 17. When you have interpreted one test line, do the same for the other lines;
- 18. If you hesitate, regard the sample as **POSITIVE** and confirm your interpretation by performing a second visual reading within the next 15 minutes;
- 19. Write down your assessment on each of the dipsticks;
- 20. Dipsticks can be archived as a permanent record if required by removing the sample pad and allowing to dry before storage. N.B. Line colour intensity will darken on drying.

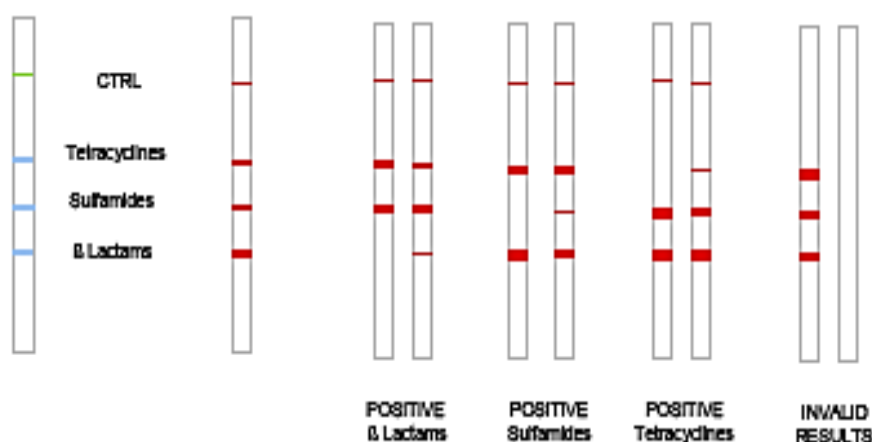


Figure A: Visual interpretation.

If you have a Readsensor, you should read the dipstick within 10 minutes of performing the test. See the user manual of Readsensor.

#### X. Limits of detection

B-LACTAMES (ppb)		SULFAMIDES (ppb)		TETRACYCLINES (ppb)	
Penicillines		Sulfadiazine	5-6	Tétracycline	80-100
Penicilline G	2-3	Sulfapyridine	0,5-1	Oxytétracycline	50-60
Ampicilline	3-5	Sulfathiazole	4-8	Chlortétracycline	50-55
Amoxicilline	3-5	Sulfamethoxazole	150-300	Doxycycline	20-30
Oxacilline	12-18	Sulfamethazine	1-1,5		
Cloxacilline	6-8	Sulfamethoxypyridazine	1-3		
Dicloxacilline	6-8	Sulfadimethoxine (Sdm)	10-15		
Nafcillin	30-40	Sulfacetamide	300-600		
Cefalosporines		Sulfamerazine	1,5-2,5		
Ceftiofur	10-15	Sulfamonomethoxine	7-14		
Cefquinome	30-35	Sulfaginoxaline	15-30		
Cefazoline	18-22	Sulfachloropyridazine	5-10		
Cefapirine	6-8	Sulfaguanidine	15-25		
Cefacefrile	30-40	Sulfamethizole	75-100		
Cefoperazone	3-4	Sulfasalazine	250-350		
Cefalexine	1000-1200				
Cefalonium	3-5				

Table A: Limits of detection of Trisensor Milk Assay.



Anexo 9.

MODELO DE INFORME PRESENTADO A AGOCALIDAD

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS "MSV"  
LABORATORIO DE BROMATOLOGIA (UNIVERSIDAD DE CUENCA)

INFORME DE RESULTADOS

TIPO DE MUESTRA: LECHE CRUDA

PROVEEDOR: Henry Guerrero

ZONA: Barabon.

FECHA DE TOMA DE LA MUESTRA: 04/Julio/ 2013

LUGAR DE PROCEDENCIA DE LA MUESTRA: Hacienda Capull

Nº MUESTRA: 1A

TEMPERATURA DE TOMA DE MUESTRA: 22°C

CONDICIONES AMBIENTALES DEL ANALISIS:

Temperatura: 20,5 °C

Humedad relativa: 59%

ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO.

ENSAYOS	MÉTODO	UNIDAD	RESULTADOS	VALORES REFERENCIALES NTE INEN 9
REACCIÓN ESTABILIDAD PROTEICA	NTE INEN 1500	n/a	Negativo	Negativo
NEUTRALIZANTES	NTE INEN 1500	n/a	Negativo	Negativo
GRASA	NTE INEN 12	%(fracción de masa)	3,4	Mín 3,0
PROTEÍNAS	NTE INEN 16	%(fracción de masa)	3,2	Mín 2,9
DENSIDAD RELATIVA 20°C	NTE INEN 11	g/ml	1,030	1,028 -1,032
ACIDEZ	NTE INEN 13	%(fracción de masa)	0,13	0,13 -0,17
SOLIDOS TOTALES	NTE INEN 14	%(fracción de masa)	12,4	Mín 11,2
SOLIDOS NO GRASOS	NTE INEN 14	%(fracción de masa)	9	Mín 8,2
ANTIBIOTICOS	TRISENSOR PRUEBA RAPIDA	n/a	Positivo $\beta$ -L	Negativo

Los resultados expresados arriba tienen validez solo para la muestra en condiciones específicas no siendo extensivo a cualquier lote.

Observaciones:

Procedimiento monitoreado y analizado para fines estadísticos para un trabajo monográfico bajo la supervisión del Laboratorio "MSV"

La prueba de Grasa, Solidos totales y Solidos no Grasos se realizó en la Facultad de Ciencias Químicas, en el Laboratorio de Bromatología.

Viviana Pillco

Dra. Sandra Guaraca

Andrea Abril

Tiempo de Almacenamiento del Informe: Cinco años a partir de la fecha de Ingreso de la muestra.

FECHA DE EMISIÓN: 06/07/2013

Anexo 10.

TABLA DE CORRECCIÓN DE LA DENSIDAD SEGÚN LA TEMPERATURA

**nutri** **ASISTENCIA TECNICA PECUARIA** **SUPERVISION DE CAMPO** **nutri Leche**

**TABLA DE CORRECCION DE LA DENSIDAD USANDO TERMOLACTODENSIMETRO CALIBRADO A 15°C**

**PESO O DENSIDAD DE LA LECHE**

	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
0	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
1	17,2	18,2	19,2	20,2	21,2	22,2	23,2	24,2	25,2	26,2	27,2	28,2	29,2	30,2	31,2	32,2
2	17,4	18,4	19,4	20,4	21,4	22,4	23,4	24,4	25,4	26,4	27,4	28,4	29,4	30,4	31,4	32,4
3	17,6	18,6	19,6	20,6	21,6	22,6	23,6	24,6	25,6	26,6	27,6	28,6	29,6	30,6	31,6	32,6
4	17,8	18,8	19,8	20,8	21,8	22,8	23,8	24,8	25,8	26,8	27,8	28,8	29,8	30,8	31,8	32,8
5	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33
6	18,2	19,2	20,2	21,2	22,2	23,2	24,2	25,2	26,2	27,2	28,2	29,2	30,2	31,2	32,2	33,2
7	18,4	19,4	20,4	21,4	22,4	23,4	24,4	25,4	26,4	27,4	28,4	29,4	30,4	31,4	32,4	33,4
8	18,6	19,6	20,6	21,6	22,6	23,6	24,6	25,6	26,6	27,6	28,6	29,6	30,6	31,6	32,6	33,6
9	18,8	19,8	20,8	21,8	22,8	23,8	24,8	25,8	26,8	27,8	28,8	29,8	30,8	31,8	32,8	33,8
10	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
11	19,2	20,2	21,2	22,2	23,2	24,2	25,2	26,2	27,2	28,2	29,2	30,2	31,2	32,2	33,2	34,2
12	19,4	20,4	21,4	22,4	23,4	24,4	25,4	26,4	27,4	28,4	29,4	30,4	31,4	32,4	33,4	34,4
13	19,6	20,6	21,6	22,6	23,6	24,6	25,6	26,6	27,6	28,6	29,6	30,6	31,6	32,6	33,6	34,6
14	19,8	20,8	21,8	22,8	23,8	24,8	25,8	26,8	27,8	28,8	29,8	30,8	31,8	32,8	33,8	34,8
15	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
16	20,2	21,2	22,2	23,2	24,2	25,2	26,2	27,2	28,2	29,2	30,2	31,2	32,2	33,2	34,2	35,2
17	20,4	21,4	22,4	23,4	24,4	25,4	26,4	27,4	28,4	29,4	30,4	31,4	32,4	33,4	34,4	35,4
18	20,6	21,6	22,6	23,6	24,6	25,6	26,6	27,6	28,6	29,6	30,6	31,6	32,6	33,6	34,6	35,6
19	20,8	21,8	22,8	23,8	24,8	25,8	26,8	27,8	28,8	29,8	30,8	31,8	32,8	33,8	34,8	35,8
20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
21	21,2	22,2	23,2	24,2	25,2	26,2	27,2	28,2	29,2	30,2	31,2	32,2	33,2	34,2	35,2	36,2
22	21,4	22,4	23,4	24,4	25,4	26,4	27,4	28,4	29,4	30,4	31,4	32,4	33,4	34,4	35,4	36,4
23	21,6	22,6	23,6	24,6	25,6	26,6	27,6	28,6	29,6	30,6	31,6	32,6	33,6	34,6	35,6	36,6
24	21,8	22,8	23,8	24,8	25,8	26,8	27,8	28,8	29,8	30,8	31,8	32,8	33,8	34,8	35,8	36,8
25	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37
26	22,2	23,2	24,2	25,2	26,2	27,2	28,2	29,2	30,2	31,2	32,2	33,2	34,2	35,2	36,2	37,2
27	22,4	23,4	24,4	25,4	26,4	27,4	28,4	29,4	30,4	31,4	32,4	33,4	34,4	35,4	36,4	37,4
28	22,6	23,6	24,6	25,6	26,6	27,6	28,6	29,6	30,6	31,6	32,6	33,6	34,6	35,6	36,6	37,6
29	22,8	23,8	24,8	25,8	26,8	27,8	28,8	29,8	30,8	31,8	32,8	33,8	34,8	35,8	36,8	37,8
30	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38

  LECHE AGUADA
   LECHE NORMAL
   LECHE DESCREMADA

**Anexo 11. Tabla promedio de resultados de las determinaciones realizadas por duplicado para cada prueba.**

ZONA DE MUESTREO: TARQUI										
FECHA DE MUESTREO: 12/Junio/ 2013										
NOMBRE DEL LECHERO	# DE MUESTRA	E. PROTEICA	NEUTRALIZ.	GRASA (%)	PROTEINAS (%)	DENSIDAD (g/ml)	ACIDEZ (%)	S. TOTALES (%)	S. NO GRASOS (%)	ANTIBIOTICOS
Juan Carlos Orozco	1A	Negativo	Negativo	3,4	3,1	1,030	0,13	12,4	9	Negativo
	1B	Negativo	Negativo	3,7	3,2	1,029	0,13	12,5	8,8	Negativo
	1C	Negativo	Negativo	3,9	3	1,029	0,13	12,7	9	Negativo
Angelita Calle	2A	Negativo	Negativo	3,3	2,9	1,030	0,13	12,3	9	Negativo
	2B	Negativo	Negativo	3,2	2,9	1,030	0,13	12,1	8,9	Negativo
Fernando Figueroa	3A	Negativo	Negativo	3,3	3	1,028	0,13	11,8	8,5	Negativo
	3B	Negativo	Negativo	4,2	3,4	1,030	0,14	13,4	9,2	Negativo
	3C	Negativo	Negativo	3,4	2,9	1,031	0,13	12,6	9,2	Negativo
Julio Paredes	4A	Negativo	Negativo	3,4	3,1	1,029	0,13	12,1	8,7	Negativo
	4B	Negativo	Negativo	3,8	3,1	1,029	0,12	12,6	8,8	Negativo
	4C	Negativo	Negativo	3,9	2,8	1,031	0,12	13,2	9,3	Negativo
Carmen Cordero	5A	Positivo	Negativo	3,2	2,7	1,031	0,16	12,3	9,1	Negativo
Olmedo Mogrovejo	6A	Negativo	Negativo	3,3	3,1	1,032	0,13	12,7	9,4	Negativo
	6B	Negativo	Negativo	3,3	2,9	1,029	0,12	12	8,7	Negativo
	6C	Negativo	Negativo	3,5	3	1,032	0,13	13	9,5	Negativo
Julio Abril	8A	Negativo	Negativo	3,5	3,1	1,030	0,12	12,5	9	Positivo
	8B	Negativo	Negativo	3,5	3,2	1,035	0,13	13,7	10,2	Negativo
Milton Rios	9A	Negativo	Negativo	3,7	3,5	1,029	0,13	12,5	8,8	Negativo
	9B	Negativo	Negativo	3,4	3,3	1,029	0,12	12,1	8,7	Negativo
	9C	Negativo	Negativo	3,4	3,1	1,031	0,13	12,6	9,2	Negativo
	9D	Negativo	Negativo	3,7	2,9	1,034	0,13	13,7	10	Negativo
Silverio Illescas	10A	Negativo	Negativo	3,2	2,9	1,030	0,12	12,1	8,9	Negativo
	10B	Negativo	Negativo	3,9	2,9	1,028	0,12	12,5	8,6	Negativo
Ramiro Samiento	11A	Positivo	Negativo	4,5	3,3	1,031	0,16	14	9,5	Negativo
	11B	Negativo	Negativo	3,7	3,3	1,032	0,14	13,2	9,5	Negativo
	11C	Negativo	Negativo	3,6	2,9	1,034	0,13	13,6	10	Negativo
Gerardo Illescas	12A	Negativo	Negativo	3,3	2,9	1,029	0,14	12	8,7	Negativo
	12B	Negativo	Negativo	3	2,7	1,027	0,12	11,1	8,1	Negativo
	12C	Negativo	Negativo	3,4	2,6	1,024	0,12	10,9	7,6	Negativo



ZONA DE MUESTREO : TARQUI										
FECHA DE MUESTREO: 26/JUNIO/ 2013										
NOMBRE DEL LECHERO	# DE MUESTRA	E. PROTEICA	NEUTRALIZ.	GRASA (%)	PROTEINAS (%)	DENSIDAD (g/ml)	ACIDEZ (%)	S. TOTALES (%)	S. NO GRASOS (%)	ANTIBIOTICOS
Enrique Guzman	1A	Positivo	Negativo	3	3,2	1,030	0,16	11,9	8,9	Negativo
	1B	Negativo	Negativo	2,8	3	1,029	0,15	11,4	8,6	Negativo
Jose Tocco	2A	Negativo	Negativo	3,7	2,9	1,031	0,14	13	9,3	Negativo
	2B	Negativo	Negativo	3,5	2,9	1,030	0,12	12,5	9	Negativo
Olmedo Tapia	3A	Negativo	Negativo	3,5	3,1	1,030	0,13	12,2	8,7	Negativo
	3B	Negativo	Negativo	4	3	1,029	0,13	12,9	8,9	Negativo
	3C	Negativo	Negativo	3,5	2,9	1,029	0,12	12,2	8,7	Negativo
Rosa Chillogallo	4A	Negativo	Positivo	3	2,8	1,025	0,10	10,6	7,6	Negativo
	4B	Negativo	Positivo	2,7	3,1	1,026	0,12	10,6	7,8	Negativo
	4C	Negativo	Positivo	2,5	2,4	1,025	0,10	10	7,5	Negativo
Gonzalo Berrezueta	5A	Negativo	Negativo	3,2	2,9	1,031	0,12	12,4	9,2	Negativo
	5B	Negativo	Negativo	4	2,9	1,030	0,12	13,1	9,1	Negativo
	5C	Negativo	Negativo	3	2,7	1,028	0,11	11,4	8,4	Negativo
Jose Bajana	6A	Positivo	Negativo	3,4	2,8	1,030	0,15	12,4	9	Negativo
	6B	Negativo	Negativo	3,7	3,5	1,034	0,14	13,7	10	Negativo
Armando Guzmán	7A	Negativo	Negativo	3,25	2,6	1,025	0,11	10,9	7,65	Negativo
	7B	Negativo	Negativo	3	2,7	1,026	0,11	10,6	7,5	Negativo
	7C	Negativo	Negativo	3,1	2,6	1,026	0,10	11	7,9	Negativo
Miguel Idrovo	8A	Negativo	Negativo	3	2,6	1,030	0,11	11,8	8,8	Negativo
	8B	Positivo	Negativo	2,9	2,7	1,031	0,15	12	9,1	Negativo
	8C	Negativo	Negativo	3,2	3	1,032	0,13	12,6	9,4	Negativo
Teodoro Arsujo	9A	Negativo	Negativo	3,8	2,9	1,030	0,12	12,9	9,1	Negativo
	9B	Negativo	Negativo	3,6	3	1,030	0,13	12,6	9	Negativo
Fausto Rumpala	10A	Positivo	Negativo	3,9	3,3	1,034	0,15	14	10,1	Negativo
	10B	Negativo	Negativo	3,6	2,7	1,027	0,11	11,9	8,3	Negativo
	10C	Negativo	Negativo	3,4	3,3	1,030	0,13	12,4	9	Negativo
Freddy Calle	11A	Negativo	Negativo	3,4	3,2	1,029	0,13	12,1	8,7	Negativo
	11B	Negativo	Negativo	3,5	3	1,030	0,12	12,5	9	Negativo
	11C	Negativo	Negativo	3,7	2,9	1,030	0,12	12,7	9	Negativo
Paulino Abril	12A	Negativo	Negativo	3,2	2,7	1,030	0,11	12,1	8,9	Negativo
Angel Guanuchi	12B	Negativo	Negativo	3,9	3,5	1,031	0,13	13,2	9,3	Negativo
	13A	Negativo	Positivo	4	2,9	1,032	0,15	13,6	9,6	Negativo
	13B	Negativo	Negativo	4	3,4	1,029	0,15	12,8	8,8	Negativo
	13C	Negativo	Negativo	3,7	3	1,030	0,13	12,7	9	Negativo
Alberto Sigüenza	14A	Negativo	Negativo	3,3	3,1	1,031	0,13	12,5	9,2	Negativo
	14B	Negativo	Negativo	3,6	3	1,030	0,13	12,6	9	Negativo
N.N	15A	Negativo	Negativo	3,9	2,9	1,029	0,13	12,6	8,8	Negativo
	15B	Negativo	Negativo	4,1	2,9	1,030	0,13	13,2	9,1	Negativo
N.N	16A	Negativo	Negativo	3,5	2,8	1,030	0,13	12,5	9	Negativo
	16B	Negativo	Positivo	3,2	2,6	1,028	0,10	11,6	8,4	Negativo

ZONA DE MUESTREO: BARABON										
FECHA DE MUESTREO: 04/Julio/ 2013										
NOMBRE DEL LECHERO	# MUESTRA	E. PROTEICA	NEUTRALIZ.	GRASA (%)	PROTEINAS (%)	DENSIDAD (g/ml)	ACIDEZ (%)	S. TOTALES (%)	S. NO GRASOS (%)	ANTIBIOTICOS
Henry Guerrero	1A	Negativo	Negativo	3,4	3,2	1,030	0,13	12,4	9	Positivo
	1B	Negativo	Negativo	3,9	3,1	1,030	0,14	13	9,1	Positivo
Silvio Peláez.	2A	Negativo	Negativo	3,5	3,1	1,030	0,14	12,5	9	Negativo
	2B	Negativo	Negativo	3,5	2,9	1,028	0,13	12	8,5	Negativo
	2C	Negativo	Negativo	3,5	3,1	1,030	0,13	12,5	9	Negativo
Tarquino Sigüenza	3A	Negativo	Negativo	3,2	3,2	1,032	0,14	12,6	9,5	Negativo
Enrique Vélez	4A	Negativo	Negativo	3,1	2,9	1,029	0,14	11,8	9	Negativo
	4B	Negativo	Negativo	3,1	3	1,030	0,13	12	8,9	Negativo
	4C	Negativo	Positivo	3,2	2,9	1,030	0,13	12,1	8,9	Negativo
Fernando Carmona	5A	Negativo	Positivo	3,7	3,2	1,030	0,15	12,8	9,1	Negativo
	5B	Negativo	Negativo	3,7	3,2	1,029	0,14	12,5	8,8	Negativo
	5C	Negativo	Negativo	3,7	3,2	1,029	0,14	13,7	9	Negativo

ZONA DE MUESTREO: SAYAUSI										
FECHA DE MUESTREO: 17/Julio/ 2013										
NOMBRE DEL LECHERO	# MUESTRA	E. PROTEICA	NEUTRALIZ.	GRASA (%)	PROTEINAS (%)	DENSIDAD (g/ml)	ACIDEZ (%)	S. TOTALES (%)	S. NO GRASOS (%)	ANTIBIOTICOS
NN	1A	Negativo	Positivo	3	3	1,029	0,13	11,7	8,7	Negativo
	1B	Negativo	Negativo	2,9	3	1,030	0,13	11,8	8,9	Negativo
NN	2A	Negativo	Negativo	3	3,1	1,030	0,14	11,9	8,9	Negativo
	2B	Negativo	Negativo	3,4	3,1	1,030	0,13	12,4	9	Negativo
NN	2C	Negativo	Negativo	3,75	3	1,030	0,13	12,8	9,05	Negativo
	3A	Negativo	Negativo	3,8	2,9	1,029	0,13	12,6	8,8	Negativo
NN	3B	Negativo	Negativo	3,6	3,2	1,031	0,13	12,9	9,3	Negativo
	3C	Negativo	Negativo	4,5	3,1	1,032	0,13	14,21	9,7	Negativo
NN	4A	Negativo	Negativo	3	2,9	1,030	0,13	11,9	8,9	Negativo
	4B	Negativo	Negativo	3,7	2,8	1,027	0,13	12	8,3	Negativo
NN	4C	Negativo	Negativo	4,3	3,2	1,031	0,14	13,7	9,4	Negativo
	6	Negativo	Negativo	3,8	3	1,030	0,13	12,9	9,1	Negativo

Anexo 12.

FOTOGRAFÍAS



Como se transporta la leche cruda para su comercialización tanto en envases adecuados como en inadecuados



Colaboración de los miembros de la policía para los operativos en las 3 zonas de muestreo



Transporte de leche conjuntamente con personas y otros objetos ajenos a la comercialización de leche



Leche cruda a la cual le hace falta las buenas prácticas de higiene



Cantarillas de agua que se transporta conjuntamente con la leche



Presencia de peróxido de hidrogeno en la leche cruda



Comerciantes de leche cruda que mostraban oposición ante la resolución de los inspectores de Agrocalidad sobre el decomiso de la leche por encontrarse en malas condiciones



Leche cruda en malas condiciones de calidad que fue decomisada por Agrocalidad y depositada en las lagunas de oxigenación de Etapa en Ucubamba





Toma de muestra y trabajo en el laboratorio de los diferentes ensayos  
fisicoquímicos basados en la NTE INEN 9:2012



Equipo de trabajo